

*Travail du Laboratoire d'Hydrologie
et de Climatologie Thérapeutique
et du Laboratoire de Pathologie Interne*

**Les réactions de l'ossification
à diverses influences expérimentales**

**(Eaux minérales, acide ascorbique
transplants, infection, régime carné)**

THÈSE

Pour le doctorat de l'Université de Lyon

SECTION DE PHARMACIE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT DEVANT LA

FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE

LE 31 MARS 1939

PAR

PIERRE TRINTIGNAC

né le 15 juin 1916

A PARIS



PAQUET, Imprimeur
10, RUE JARENTE - LYON
1939

**Les réactions de l'ossification
à diverses influences
expérimentales**

*Travail du Laboratoire d'Hydrologie
et de Climatologie Thérapeutique
et du Laboratoire de Pathologie Interne*

**Les réactions de l'ossification
à diverses influences expérimentales**

**(Eaux minérales, acide ascorbique
transplants, infection, régime carné)**

THÈSE

Pour le doctorat de l'Université de Lyon

SECTION DE PHARMACIE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT DEVANT LA

FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE

LE 31 MARS 1939

PAR

PIERRE TRINTIGNAC

né le 15 juin 1916

A PARIS



PAQUET, Imprimeur
10, RUE JARENTE - LYON

1939

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE.
Assesseur	M. A. MOREL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN, PAVIOT,
NICOLAS, VILLARD, NOVE-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. FROMENT.
Cliniques chirurgicales	SAVY.
Clinique obstétricale et Accouchements.....	PATEL.
Clinique ophtalmologique	BERARD.
Cliniques dermatologique et syphiligraphique.....	VORON.
Clinique neurologique et psychiatrique.....	BONNET.
Clinique médicale infantile.....	FAVRE.
Clinique gynécologique	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURIQUAND.
Clinique urologique	COTTE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	REBATTU.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.....	CIBERT.
Clinique des maladies infectieuses.....	TAVERNIER.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....	COURMONT.
Chimie biologique et médicale.....	J. CHALIER.
Chimie organique et Toxicologie.....	PONTHUS.
Matière médicale et Botanique.....	FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....	MOREL.
Anatomie	MANCEAU.
Histologie	GUIART.
Physiologie	LATARJET.
Pathologie interne	POLICARD.
Pathologie générale et thérapeutique.....	HERMANN.
Anatomie pathologique	CORDIER.
Chirurgie opératoire	CADE.
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie.....	J. F. MARTIN.
Médecine légale	SANTY.
Hygiène	ARLOING (F.).
Pharmacie et Pharmacologie.....	Etienne MARTIN.
Hydrologie thérapeutique et Climatologie.....	ROCHAIX.
	LEULIER.
	PIERY.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale.....	MM. THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'embryologie	NOEL.

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
GABRIELLE	GUILLEMINE	DE ROUGEMONT	MORIN
DECHAUME	MORENAS	P. RAVAUULT	BERTRAND
BERNHEIM	REVOL	PIGEAUD	CLAVEL
POLLOSSON	ENSELME	CROIZAT	LEVRAT
CHAMBON	SEDALLIAN	DELORE	
EPARVIER	CREYSSEL	JOSSERAND	



EXAMINATEURS DE LA THESE

M. PIERY, *président*,
MM. CORDIER, REVOL, ENSELME.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A MON PERE ET A MA MERE

A TOUS LES MIENS

A MES MAITRES

A MES AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Avant-Propos

Avant d'aborder l'exposé de notre travail, nous tenons à nous acquitter d'un bien agréable devoir : celui de remercier Messieurs les Professeurs de cette Faculté de l'enseignement précieux qu'ils nous ont donné, et plus particulièrement nos Maîtres sous la direction desquels ce travail a été effectué.

Monsieur le Professeur PIÉRY, qui nous a accueilli avec beaucoup de bienveillance, nous fait aujourd'hui l'honneur de présider notre thèse. Nous le remercions très respectueusement.

Nous prions Monsieur le Professeur CORDIER de bien vouloir trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude pour l'accueil si bienveillant qu'il nous a réservé dans son laboratoire et pour l'intérêt qu'il a porté à notre thèse.

Notre reconnaissance ira également à Monsieur le Professeur Agrégé REVOL qui a bien voulu accepter aussi d'être aujourd'hui notre Juge, pour l'intérêt qu'il a porté à nos recherches et plus spécialement à la question du soufre qui, dans ce travail, est son œuvre plus que la nôtre.

Nous ne saurions trop remercier Monsieur le Professeur Agrégé ENSELME à qui nous devons notre formation en Chimie Biologique et en Hydrologie. S'il a été l'inspirateur de ce travail il en a aussi accompli une grosse part. Nous sommes heureux d'avoir été son modeste collaborateur et de pouvoir, en le remerciant, lui dire notre profond attachement. Nous conserverons toujours un agréable souvenir de l'atmosphère amicale qu'il sait faire régner autour de lui.

Monsieur le Professeur Agrégé Dechaume a pratiqué l'examen histologique des mastoïdes que nous a procurées Monsieur le Docteur MOUNIER-KUHN, ancien chef de clinique à la Faculté. Nous les prions de trouver ici l'expression de nos vifs remerciements.

Monsieur le Professeur Agrégé CROIZAT a pratiqué divers examens histologiques. Nous l'en remercions vivement.

Notre tâche ne serait pas terminée si nous n'adressions à nos Camarades, et en particulier à Mademoiselle ROMANETTO et à Monsieur WAHL, dont l'aide nous a été si utile, nos remerciements les plus cordiaux auxquels nous joignons l'assurance de notre bonne amitié.

Les réactions de l'ossification à diverses influences expérimentales

Introduction

Ce travail est consacré à l'étude du comportement chimique du système osseux sous l'influence de divers facteurs d'action très générale.

Les altérations primitives des os, si elles ne sont pas systématiquement écartées, ne constituent cependant pas un des éléments de nos recherches. Il ne nous paraît pas opportun de faire précéder notre travail d'une revue générale sur l'os et l'ossification. Ce sujet a été récemment l'objet d'un très bel exposé de la part de MM. POLICARD et ROCHE au Congrès de Physiologie de 1938. Il nous paraît donc inutile de le reprendre et nous nous contenterons dans ce chapitre de généralités de schématiser en quelques phrases les idées qui semblent actuellement en cours sur la biochimie de l'os.

L'os est un tissu vivant sur lequel se sont déposés des sels. Le tissu vivant est représenté par des cellules osseuses, les ostéoblastes, cellules peu nombreuses à faible

métabolisme, capables sous certaines influences que nous aurons à examiner d'emmagasiner des graisses, capables aussi sans doute de sécréter des diastases au premier rang desquelles il faut probablement placer les phosphatases.

A côté de ces cellules, les entourant, se trouvent des lamelles protéïdiques qui constituent de vastes surfaces d'adsorption. Elles sont représentées au point de vue chimique par une ostéomucoïde qui fixe probablement les sels, par une ostéoalbumoïde, par du collagène formant des fibres de Sharpey qui paraissent incapables d'adsorber les sels de Ca. Dans ce tissu circule, par l'intermédiaire de vaisseaux courant à l'intérieur de canaux allongés, les canaux de Havers, un sang destiné à apporter d'une part les éléments nutritifs et l'oxygène destinés à cette portion organique de l'os, d'autre part les ions qui seront fixés par l'os.

Des sels de Ca se déposent sur les travées protéïdiques. Dans l'os jeune, ces sels paraissent être essentiellement constitués par du phosphate tricalcique et peut-être même un supplément de Ca sous forme de chaux. Dans l'os vieilli, peu à peu du CO_2 , du F et d'autres éléments viennent modifier ce dépôt ; il se forme alors une molécule complexe du type apatite.

Nous pensons que dans l'état actuel de nos connaissances, le mécanisme de l'ossification peut être résumé ainsi : dans le sang circulent des ions Ca et des ions phosphates. Il en est de même dans la lymphe. Normalement ceux-ci n'atteignent pas une concentration suffisante pour qu'il se produise une précipitation de phosphate tricalcique. Cependant au point où se fera l'os, une double con-

centration semble se réaliser, concentration des ions Ca vraisemblablement par adsorption sur les surfaces protéidiques, et concentration des ions phosphates par libération de l'acide phosphorique des phosphates organiques de la lymphe sous l'action des phosphatases. Une précipitation s'ensuit, le sel précipité reste en équilibre avec les ions phosphates et Ca de la lymphe et le phénomène de précipitation est réversible. L'ox reste en équilibre avec le milieu dans lequel il baigne, toujours susceptible d'augmenter ou de diminuer ses dépôts selon l'état de ce milieu.

Telles sont, brièvement résumées, les connaissances sur lesquelles paraît se faire aujourd'hui une entente provisoire des différents chercheurs qui ont abordé ces questions complexes et difficiles.

Au cours de notre étude nous aurons d'ailleurs l'occasion de développer certains points dont la connaissance plus approfondie est indispensable pour la compréhension des résultats de nos recherches.

CHAPITRE PREMIER

LES VARIATIONS DE LA CONSTITUTION CHIMIQUE DE L'OS CHEZ L'ANIMAL ADULTE

Expériences personnelles
au sujet de l'influence des transplants
sur la composition chimique du squelette

L'os étant constitué, diverses perturbations spontanées ou provoquées, le plus souvent d'ordre pathologique, peuvent modifier sa constitution chimique. Ces transformations se traduiront par des modifications quantitatives de la portion organique, des cendres, du P, du Ca ou du CO^2 . Il convient de discuter l'interprétation de ces variations du taux des éléments constitutants. Il conviendra ensuite de se demander dans quelles mesures peuvent se faire ces variations et enfin quelle est la sensibilité du système osseux aux agents perturbateurs.

**Interprétation de la variation du pourcentage
des éléments qui constituent l'os**

Un simple coup d'œil jeté sur nos résultats et sur ceux des autres auteurs en même temps qu'un raisonnement élémentaire, nous conduisent à penser que les variations observées peuvent être catégorisées ainsi :

1° Dans certains cas les sels fixés passent en solution et abandonnent leur support protéidique. Dans ce cas le meilleur guide pour apprécier ce phénomène paraît bien être celui indiqué en 1936 par Mme A. ROCHE et Mlle GARCIA. L'azote étant considéré par ces auteurs comme le constituant le plus spécifique du stroma protéique de l'os et le phosphore comme l'élément le plus représentatif de sa partie minérale, elles choisissent comme caractéristique le rapport P/N. Ces auteurs ont utilisé ce rapport dans une série de travaux sur l'ossification et les dystrophies osseuses chez le rat.

2° Les graisses de l'os (la moelle étant exclue aussi complètement que possible) peuvent varier : elles peuvent augmenter ou elles peuvent diminuer. Dans tous les cas ces modifications retentiront sur le pourcentage des cendres et des éléments de ces cendres dans l'os desséché. En outre une comparaison des éléments de l'os desséché et de l'os desséché et dégraissé donnera la certitude d'une variation au niveau des graisses.

Il nous paraît enfin, d'après nos résultats personnels que dans ces cas la variation prédomine au niveau de l'épiphyse, constatation assez facile à expliquer puisque,

au niveau de celle-ci, la portion organique est beaucoup plus importante qu'au niveau de la diaphyse.

Tout particulièrement dans ce cas il sera intéressant de confronter les résultats trouvés avec ceux que peut fournir l'examen histologique.

Nous apportons deux exemples de ce type de variations l'un correspondant à une accumulation des graisses sous l'action d'injections répétées d'acide ascorbique, l'autre correspondant à une diminution des graisses osseuses chez le poulet soumis à un régime carné exclusif.

3° Une augmentation du dépôt osseux peut se produire même chez l'animal adulte. Il apparaît d'après nos résultats que ce dépôt est riche en phosphates et en Ca, plus pauvre en CO_2 . Or il semble établi depuis longtemps que chez l'animal jeune la substance osseuse est constituée surtout par du phosphate tricalcique et que chez l'animal plus âgé elle renferme plus de carbonate de calcium. HUGOUNENQ a montré que le carbonate de Ca n'apparaît dans les os du fœtus humain que dans la seconde moitié de la gestation. La surcharge osseuse que nous constatons est donc du type jeune.

Ampleur des variations observées

Dans certains cas pathologiques, des modifications d'une ampleur considérable peuvent être observées. Dans les cas qui nous occupent, ayant étudié le plus souvent le retentissement osseux d'une perturbation générale apportée à la physiologie de l'animal et non d'une lésion locale de l'os, les différences que nous avons notées sont le

plus souvent minimales, de l'ordre de 10 %. Seule leur constante répétition dans les diaphyses et les épiphyses, au niveau des fémurs et des humérus et le fait que nos analyses ont porté sur des mélanges d'os recueillis sur divers sujets, nous permettent d'affirmer qu'il s'agit de différences dues aux facteurs de perturbation étudiés et non dues à des variations individuelles.

De toute façon nous n'avons comparé entre eux que des lots d'animaux du même âge élevés dans les mêmes conditions de climat et d'alimentation. Chacun des résultats de nos expériences sera comparé non à un type dit normal, mais à des témoins spécialement préparés et pour lesquels ont été réalisées, les facteurs de perturbation mis à part, les mêmes conditions physiologiques.

La sensibilité du système osseux Aux actions générales

On sait l'extrême sensibilité du système osseux au régime alimentaire. D'autre part récemment, ROCHE a attiré l'attention sur l'interdépendance des différents éléments du squelette en montrant qu'après une fracture on note aussi bien au niveau de l'os fracturé qu'au niveau de l'os homologue un abaissement du rapport P/N correspondant à une « déminéralisation générale du système osseux dans la période qui suit le traumatisme ».

HEVESY, dès 1931, a montré que si l'on introduit par voie buccale chez l'animal des composés contenant un isotope radioactif du P, ces composés sont distribués au tissu osseux. C'est ainsi que chez le rat adulte les os

contiennent une semaine après l'ingestion 25 % du P radioactif ingéré.

A et J. ROCHE et Y. MARCÉLET ont montré que « le système osseux est, au cours de la vie, le siège d'une succession de modifications dans sa composition en relation directe avec les processus généraux réglant l'activité et le développement de l'ensemble des organes auxquels il sert mécaniquement de support. »

POLICARD et ROCHE ont émis récemment une hypothèse selon laquelle il y aurait dans l'os « un élément structural inorganique défini, micro-cristallin, sans doute difficilement mobilisable, véritable charpente minérale du squelette autour de laquelle se constitueraient des dépôts salins. Ceux-ci, de nature essentiellement variable et formés en quantité plus ou moins grande suivant les conditions physiologiques (âge, régime, etc...), formeraient la réserve minérale facilement mobilisable dont les mammifères disposent au niveau de leur squelette pour couvrir les besoins exigés par la régulation de l'équilibre acide-base, la lactation, la grossesse ». Cette opinion apparaît comme la conclusion logique de la confrontation des nombreux résultats publiés par divers auteurs.

De tous ces faits il semble bien résulter que :

1° Le système osseux même chez l'adulte n'est pas un système rigide, mais au contraire un ensemble sensible, capable de réagir à de multiples influences en modifiant légèrement sa constitution chimique.

2° Les divers os qui constituent autant d'éléments de ce système vivent chez un même animal en étroite solidarité les uns avec les autres et toute perturbation portant sur l'un d'eux retentit sur l'ensemble du système osseux.

Expériences personnelles sur les transplants osseux

Nous pensons apporter un argument nouveau en faveur de cette thèse par l'expérience suivante :

A) *Protocole expérimental.* — Nous avons utilisé pour nos recherches 12 cobayes. Ceux-ci étaient d'un poids moyen de 400 à 500 grammes ; ils étaient nourris au moyen d'un mélange de son et de verdure ; l'eau leur était donnée à discrétion. Six d'entre eux reçurent dans la masse musculaire de la région lombaire un transplant osseux de quinze milligrammes environ, transplant formé par un débris diaphysaire du fémur d'un cobaye sacrifié immédiatement avant ce prélèvement. Le transplant était inclus en plein muscle, un crin de Florence rapprochant les deux portions musculaires écartées pour le passage du transplant ; le tissu cellulaire et la peau étaient ensuite fixés par des agrafes de Michel qui furent enlevées dès que la cicatrisation fut constatée. Chaque animal avait une cage particulière. Après un mois et demi tous les animaux furent sacrifiés, les transplants furent exclus, les fémurs et les humérus furent isolés immédiatement par dissection des parties molles.

Les différents dosages furent pratiqués séparément sur les diaphyses et les épiphyses d'après les méthodes décrites dans l'appendice. Le tableau de la page 20 résume nos résultats. Dans chaque cas, témoin et inclus, diaphyses et épiphyses, ces chiffres s'appliquent au mélange des 12 fémurs et des 12 humérus.

B. Interprétation.

En conclusion il apparaît nettement que le pourcentage du P et du Ca dans l'os desséché est augmenté par l'inclusion alors que le pourcentage du CO_2 est diminué. En outre le pourcentage des cendres est lui aussi constamment augmenté. C'est au total une néo-ossification formée de dépôts à prédominance phosphatique. Il apparaît donc très nettement que l'inclusion osseuse retentit à distance sur l'ensemble du squelette par une voie qui ne peut être que générale. Il est impossible d'aller plus loin sans se hasarder dans des hypothèses non justifiées.

Il est bien difficile de dire quelle est la voie de propagation : sanguine, lymphatique ou nerveuse ? Il n'est pas possible non plus de préciser quel est le mécanisme d'action. Est-il hormonal par l'intermédiaire des parathyroïdes, diastasique par l'intermédiaire des phosphatases, ou ionique par l'intermédiaire de la surcharge sanguine phosphatique et calcique provoquée par la résorption du transplant ? Rien ne permet actuellement de le dire. Nous devons attendre de nouvelles expériences pour préciser ces divers points. De tout cela nous ne retiendrons donc que la démonstration nouvelle que nous pourrions apporter du fait de la solidarité et de l'extrême sensibilité des divers éléments du squelette.

		% d'os desséché et dégraissé				Cendres d'os desséché				% d'os desséché			
		P	Ca	CO ²		Cendres	Ca	P		Ca	P	Ca	CO ²
Fémur	Diaphyse {				Témoin								
	Inclus {	13,99	28,53	4,36		68,09	40,76	13,60		27,75		4,24	
		14,93	29,72	4,16	Inclus	68,85	42,84	14,81		29,50		4,12	
	Epiphyse {	10,07	23,05	3,46	Témoin	53,96	41,14	9,69		22,20		3,33	
Humérus	Inclus {	11,11	25,21	3,22		55,78	44,15	10,85		24,63		3,14	
	Diaph. {	13,45	30,63	4,63	Témoin	68,09	44,57	13,32		30,34		4,59	
	Inclus {	14,20	31,62	4,10		68,75	45,77	14,12		31,46		4,08	
	Epiph. {	9,38	24,98	3,15	Témoin	51,49	47,63	9,21		24,52		3,09	
	Inclus {	10,48	26,38	3,14		55,47	45,80	10,09		25,41		3,02	

CHAPITRE II

ACTION EXPERIMENTALE DE DIVERSES EAUX MINERALES SUR L'OSSIFICATION

(SALINS-MOUTIERS ET AIX-LES-BAINS)

Nous avons étudié l'action de deux eaux minérales de type chimique différent : d'une part l'eau de Salins-Moutiers qui est une eau chlorurée sodique à forte minéralisation, et d'autre part l'eau d'Aix-les-Bains qui est une eau sulfureuse à minéralisation faible. Dans les deux cas l'administration a été faite par bains mais il faut admettre dans le second cas l'absorption de H^2S au niveau du poumon pendant le bain.

Les méthodes d'étude ont été différentes dans l'un et l'autre cas, car nous nous sommes efforcés de les appliquer aux connaissances cliniques antérieurement acquises.

I. — Action des eaux chlorurées sodiques

Il était classiquement admis que les eaux chlorurées sodiques provoquent une recalcification au niveau des pseudarthroses et activent la calcification des foyers de fracture normaux. L'observation clinique d'une part, l'enregistrement radiologique d'autre part semblent particulièrement le démontrer.

De très intéressantes observations cliniques de divers praticiens sur l'effet de la cure de Bourbonne sur l'évolution des fractures, semblent particulièrement probantes à ce sujet. Certaines radiographies publiées par ces auteurs montrent des recalcifications de fractures qui paraissent accélérées de façon évidente. L'effet vasomoteur provoqué par le bain est, pensons-nous, à la base même de ces observations.

Nous croyons apporter un nouvel argument, celui-ci chimique et non plus radiographique, en faveur de l'action des eaux chlorurées sodiques sur les fractures, par l'expérience suivante pratiquée au moyen de l'eau chaude chlorurée sodique de Salins-Moùtiers. L'ouverture de quelques foyers de fracture, leur infection secondaire nous ont malheureusement réduits à ne rapporter qu'un petit nombre de cas.

L'expérimentation a été effectuée au griffon même de la source par M. LEVAN-SEN que nous tenons à remercier.. Quatre lapins sont préparés de la façon suivante : leur patte postérieure gauche est, sous anesthésie locale à la novocaïne, fracturée au niveau du tibia. Deux jours après, deux d'entre eux sont baignés au moyen de l'eau de la

source chaude de Salins-Moûtiers. Le bain, au début, est d'une durée de 15 minutes, mais arrive rapidement à une durée d'une heure. Les deux autres sont baignés dans de l'eau ordinaire portée à la même température que celle de Salins.

Tous les animaux sont sacrifiés au bout d'un mois et demi du traitement balnéaire. A la dissection les foyers de fracture sont remplacés par un cal osseux qui englobe les extrémités de l'os ancien, toujours d'ailleurs faciles à reconnaître et à différencier du cal. Dans le cas des animaux baignés au moyen de l'eau minérale, le cal est plus rouge, plus vascularisé ; il est en outre plus exubérant, plus volumineux et enrobe plus complètement les extrémités osseuses.

L'analyse chimique des cals nous a donné les résultats suivants :

		Cendres % d'os desséché	% d'os desséché et dégraissé		
			P	Ca	CO ²
Bains d'eau de Salins chaude	N° 1	54	17,68	26,23	3,81
	N° 2	45	18,30	25,68	3,83
	Moyenne	49,5	17,99	25,96	3,82
Témoins : bains d'eau ordinaire chaude	N° 1	55	16,70	25,86	3,81
	N° 2	34	15,20	24,48	3,80
	Moyenne	44,5	15,95	25,17	3,81

Au total nous voyons que le cal des animaux baignés dans l'eau de Salins est à la fois plus volumineux et plus riche en sels que le cal des animaux baignés dans l'eau ordinaire chaude. C'est la démonstration chimique de l'influence des eaux chlorurées sodiques sur la recalcification des foyers de fracture.

Cette action peut être comparée à celle d'autres eaux chlorurées sodiques, les eaux de Bourbonne-les-Bains. LERICHE assimile leur action à celle de la sympathectomie péri-artérielle et il écrit : « L'effet de l'eau rejoint celui des sympathectomies qui, elles aussi, hyperhémient et recalcifient : le bain de Bourbonne est une *sympathectomie hydrominérale* ».

Au niveau des foyers de fracture, l'augmentation du tonus des centres vaso-moteurs provoque ces hyperhémies intermittentes locales, sur lesquelles LERICHE et POLICARD ont insisté, et qui ont une importante action biochimique sur la réparation osseuse.

II. — Action des eaux sulfureuses

Nous avons institué une expérience à Aix-les-Bains afin de rechercher le mécanisme d'action de ces eaux sur les résorptions osseuses. L'expérience est complémentaire de celle instituée au chapitre précédent pour démontrer le rôle des transplants sur l'ossification. Elle fut réalisée au même moment et dans les mêmes conditions sur six autres animaux ayant reçu aussi un transplant et qui furent baignés par M. EXSELME dans les eaux de la source Alun

d'Aix-les-Bains au griffon même. L'eau arrivait directement dans une cuve grillagée par dessus. Elle était à une température d'environ 45° et les animaux étaient plongés dans l'eau jusqu'au niveau du cou. Les bains furent donnés pendant un mois et demi, trois quarts d'heure chaque jour. Après le bain, les animaux étaient séchés et replacés dans leur cage. Ils furent sacrifiés en même temps que ceux de l'expérience précédente.

L'examen de ces divers animaux nous a permis les observations suivantes :

1° Les transplants des six animaux non baignés furent réunis entre eux. Les transplants des six animaux baignés le furent aussi et bien que la quantité de matériel fut minime, nous pûmes en toute sécurité pratiquer les mensurations suivantes :

	Eau %	Cendres %
Animaux non baignés.....	5,8	70,98
Animaux baignés	8,1	68,6

On voit que les transplants des animaux baignés contiennent moins de cendres et plus d'eau que ceux des animaux non baignés.

En outre, à la libération anatomique des transplants, nous avons pu facilement énucléer ceux des animaux non baignés. Nous avons dû disséquer ceux des animaux baignés, les muscles voisins adhérant à leur surface.

2° Nous avons étudié le système osseux des animaux baignés dans les mêmes conditions qu'au chapitre précédent et nous avons obtenu les résultats suivants :

		% d'os desséché et dégraissé			Ca
		P	Ca	CO ² des cendres	
Fémur	{ Diaphyse	14,18	29,16	4,23	40,82
	{ Epiphyse	10,64	24,59	3,32	42,73
Humérus	{ Diaphyse	13,77	30,41	4,74	44,32
	{ Epiphyse	9,99	25,15	3,43	46,01

		% d'os desséché			CO ²
		Cendres	P	Ca	
Fémur	{ Diaphyse	69,93	13,88	28,55	4,14
	{ Epiphyse	54,82	10,13	23,42	3,16
Humérus	{ Diaphyse	66,74	13,39	29,58	4,61
	{ Epiphyse	52,34	9,67	24,08	3,28

En comparant ce tableau à celui du chapitre précédent on voit que sous l'action de la balnéation sulfureuse l'effet de la résorption du transplant est annulé. L'interprétation de ce fait demande d'autres expériences que nous nous proposons de réaliser. Nous pensons que l'hypothèse la plus vraisemblable est celle de la fixation des éléments résorbés du transplant dans le tissu musculaire qui l'entoure et qui, dans le cas des animaux baignés, lui adhère ; mais d'autres explications peuvent être données et nous attendrons pour conclure, d'avoir obtenu de nouveaux résultats.

CHAPITRE III

ACTION DE L'INFECTION SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'OS ETUDE DE MASTOÏDITES HUMAINES

Les modifications osseuses qui se réalisent dans les foyers d'ostéite ou à leur voisinage sont encore assez mal connues. Quelques indications déjà anciennes sont données par HUGOUNENQ qui distingue la carie et la nécrose « La carie est une ostéite suppurative de nature spéciale, caractérisée par le ramollissement, la désagrégation et la dégénérescence graisseuse du tissu osseux : la proportion des graisses augmente, celle des sels minéraux diminue. La nécrose est la mort de tout ou partie de l'os : la matière organique s'altère et disparaît. »

Actuellement la majorité des auteurs pense qu'il convient de distinguer selon la topographie même des lésions une zone qui est au centre du foyer infecté et une zone périphérique qui au-delà de l'infection représente une zone de réaction osseuse au niveau du tissu resté sain. Pour étudier quels sont les mouvements minéraux qui se

réalisent dans cette zone, nous avons pensé qu'il pourrait être intéressant de nous adresser à la région corticale sous-périostée de mastoïdes infectées.

Des prélèvements ont été réalisés sur des mastoïdes banales non extériorisées appartenant pour 2 d'entre elles à des sujets âgés de plus de 45 ans, pour les 2 autres à des sujets âgés de 20 à 25 ans. Des prélèvements ont été réalisés dans des couches superficielles sous-périostiques à distance du foyer de suppuration. En pratique ce sont les premiers copeaux osseux de la corticale mastoïdienne enlevés à la gouge au début de l'intervention. Des prélèvements ont été faits sur des mastoïdes saines de cadavres dans le but d'établir des éléments de comparaison.

Trois prélèvements constituant les témoins ont été réunis en un seul dosage ; les mastoïdes malades ont été étudiées tantôt séparément (n^{os} 1 et 3) tantôt groupées par 2 (n^o 2)

Résultats

		% d'os desséché et dégraissé			Ca des cendres	% d'os desséché			
		P	Ca	CO ²		Cendres	P	Ca	CO ²
Témoin		11,30	25,74	4,31	43,14	59,03	11,17	25,46	4,26
Malades	1	11,70	28,98	4,13	42,87	66,99	11,60	28,71	4,09
	2	12,11	27,55	4,23	42,69	64,07	12,02	27,35	4,19
	3	12,62	28,54	4,32	43,01	65,62	12,47	28,22	4,27

De l'examen de ces résultats, il apparaît que :

1° Les cendres, le phosphore et le calcium sont augmentés dans l'os malade ;

2° l'anhydride carbonique par contre est légèrement diminué ;

Cette augmentation du phosphore par rapport à l'anhydride carbonique paraît traduire la formation d'un os jeune.

Histologiquement : un examen a montré à Monsieur le professeur agrégé DECHAUME qu'il s'agit d'une formation osseuse très vascularisée sans signes inflammatoires aigus .

Intérêt des résultats obtenus. — Les résultats ainsi obtenus semblent intéressants à un double point de vue :

1°. — Au point de vue de la pathologie générale, de semblables lésions ont été décrites plusieurs fois par LERICHE et POLICARD au point de vue histologique, et tout récemment encore par LERICHE. Des études histologiques des foyers d'ostéomyélite ont été récemment faites par LOUBAT, CRETIN et MAGENDIE. De la synthèse de ces faits présentés par LERICHE, il semble résulter qu'il existe en partant de ces foyers 3 zones :

a) Une zone où par suite d'une thrombose artériolaire l'os est privé des éléments nutritifs et meurt rapidement. Son tissu de soutien protéique subit la protéolyse en milieu infecté et se détruit en produisant du pus. Ses sels varient peu au contraire et le fragment d'os mort persiste parfois pendant des années.

b) Tout autour de l'os mort se fait une zone de vasodilatation. Cette vasodilatation provoque une raréfaction où se produit de l'ostéolyse. Parfois se surajoute un phénomène infectieux qui provoque de l'ostéoclasie. L'extension de cette zone de décalcification et de raréfaction est parfois très grande et peut gagner même les os voisins. Tout autour du fragment osseux mort, la vasodilatation et la décalcification sont si importantes qu'elles aboutissent le plus souvent à une libération du fragment d'os mort et le transforment en séquestre.

c) En même temps, par suite de l'apport des matériaux provenant de la décalcification voisine, une ossification sous-périostée se réalise, qui provoque là des condensations qui emprisonnent le séquestre.

Si l'on cherche à rapprocher ces observations des résultats de notre étude, on voit que nous avons dû nous tenir dans la zone d'ossification (c), cette zone est d'ailleurs ainsi qu'elle apparaît assez épaisse et compatible avec une vascularisation augmentée.

2°. — Dans les mastoïdes éburnées, au cours de certains processus chroniques, la question a pu se poser de l'antériorité de l'infection ou de la condensation osseuse. Le fait que l'infection peut provoquer une zone assez étendue d'ossification à la périphérie de la mastoïde semble s'inscrire en faveur de l'antériorité de cette infection.

CHAPITRE IV

L'ACIDE ASCORBIQUE AGENT OXYDO-REDUCTEUR

Nous avons étudié l'action de l'acide ascorbique en nous plaçant essentiellement du point de vue de son action sur les oxydo-réductions. C'est donc sous cet aspect que nous allons examiner les données obtenues sur ce sujet antérieurement à nos recherches.

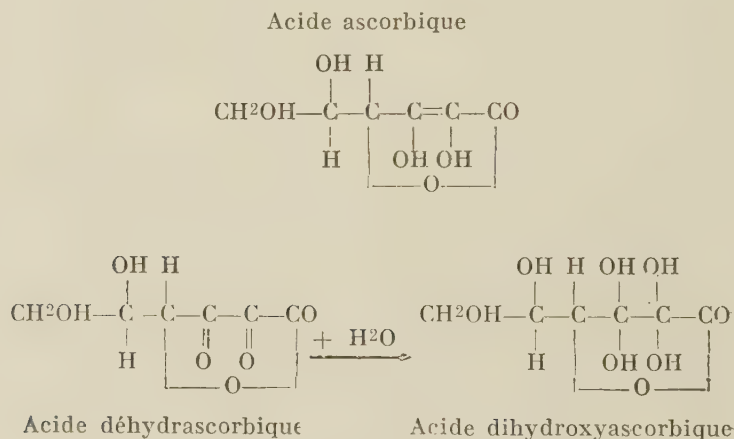
I. — Evolution de l'acide ascorbique en solution

L'acide ascorbique, bien connu depuis les très beaux travaux de SZENT-GYÖRGYI et de HAWORTH, s'autoxyde en présence d'air ou d'oxygène en milieu de pH supérieur à 7.

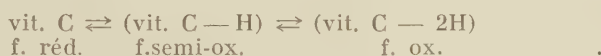
H. BORSOOK, H. W. DAVENPORT, C. JEFFREYS et R. C. WARNER, pratiquant en 1937 une étude potentiométrique des oxydo-réductions dans les systèmes à base d'acide ascorbique, ont distingué deux stades d'oxydation : un premier stade physiologiquement réversible, l'acide ascorbique — l'acide déhydrascorbique, et un second stade irréversible se

produisant à des pH supérieurs à 4 et à la température ordinaire pendant lequel l'acide déhydrascorbique se transforme en un composé plus acide et beaucoup plus réducteur que l'acide ascorbique. Ce second produit n'est pas réduit par l'hydrogène sulfuré en liqueur acide ni par le glutathion en liqueur neutre ou alcaline. Il prend naissance même en l'absence d'air et d'agents oxydants ; physiologiquement il n'a plus d'action antiscorbutique.

SZENT-GYÖRGYI a défini un premier système oxydo-réducteur réversible formé par la vitamine C et son dérivé d'oxydation, l'acide déhydrascorbique. L'ensemble, d'après HAWORTH, peut s'exprimer ainsi :



En 1938, BEZSSONOFF et M^{me} WOLOSZYN donnent de nombreux arguments en faveur de l'existence d'une troisième forme d'oxydation également réversible, intermédiaire entre l'acide ascorbique et l'acide déhydrascorbique. Leur démonstration qui repose sur l'étude de l'absorption de l'oxygène par la vitamine C et de ses réactions colorées réversibles avec l'acide phosphomolybdique, conduit à penser qu'il existe un système total qui peut être ainsi schématisé :



Ce système réversible passant par une semi-oxydation se réalise aussi bien à pH 2,6 qu'à pH 6,64 utilisé par les auteurs et paraît indépendant des variations de pression d'oxygène réalisées à l'intérieur des vases servant à l'expérience. Cependant la réalisation de la forme semi-oxydée se trouverait favorisée si l'on augmente la concentration en acide ascorbique ou si l'on diminue la quantité d'oxygène disponible. Enfin à pH 6,64 l'équilibre penche vers la forme semi-oxydée si on le compare à l'équilibre réalisé à pH 2,6. Son oxydabilité fait de l'acide ascorbique un corps extrêmement réducteur. Ses propriétés réductrices sont « sans seconde parmi les substances composées seulement de C, H et O ». Il réduit immédiatement à froid la liqueur de Fehling, le permanganate de potassium, le nitrate d'argent, alcalin, neutre, ou même acide, et ceci même à l'obscurité.

Sur ce pouvoir réducteur extrêmement intense repose le principe de la presque totalité des dosages : dosages io-

dométriques (EDLBACHER et JUNG) transformation du bleu de méthylène en sa leucobase (Martini et BONSIGNORE), réduction du 2,6 — dichlorophénolindophénol (TILLMANS, puis HARRIS et RAY, MARTIUS et V. EULER, EMMERIE et VAN EEKELEN, B. AHMAD, E. W. Mc. HENRY et M. GRAHAM), réduction de l'acide monomolybdophosphotungstique (N. BEZSONOFF, A. DELIRE et H. VAN WIEN), réduction de l'acide phosphotungstique (Gr. MEDES), réduction d'un réactif sulfotungstique (A. FUJITA, D. IWATAKE et T. MIYATA). Du point de vue analytique, la critique de ces dosages a été faite par MM. P. MANCEAU, A. POLICARD et M. FERRAND. Nous en retiendrons l'extrême généralité de l'effet réducteur produit par l'acide ascorbique lorsqu'il est sous sa forme réduite.

C'est encore en se basant sur l'oxydation facile de l'acide ascorbique que A. CHEVALIER et Mlle Y. CHORON ont donné une méthode de dosage spectrophotométrique. C'est une méthode différentielle qui étudie comparativement deux spectres obtenus, l'un sur un liquide d'extraction contenant de l'acide ascorbique, l'autre sur le même liquide mais après que l'acide ascorbique a été complètement détruit par un rayonnement ultra-violet convenable.

La vitesse de la réaction d'oxydation paraît relativement grande. CHEVALIER et Mlle CHORON ont pu la suivre par la méthode spectrophotométrique. La transformation paraît presque totale après une heure à 37°, dans une solution à 1/100.000.

D'après C.-A. MAWSON, si l'on fait une solution d'acide ascorbique dans de l'eau plusieurs fois redistillée dans du verre et ne contenant pratiquement ni fer, ni cuivre, on

n'obtient qu'une oxydation extrêmement minime. Ce serait donc des traces de fer ou de cuivre qui catalyseraient la transformation.

CHEVALIER et Mlle CHORON ont montré que si l'on ajoute à la solution initiale d'acide ascorbique 1/100.000, 1/50.000 de cyanure de potassium, la courbe spectrophotométrique ne se modifie pas après un séjour d'une heure à 37°. Ce résultat semble donc confirmer l'opinion de MAWSON.

Par ailleurs, CHEVALIER et Mlle CHORON ont montré que cette même solution d'acide ascorbique soumise au rayonnement d'un tube à hydrogène à très grande puissance à pH 6 voit disparaître son absorption au fur et à mesure de la radiation en 45 minutes environ.

Lorsque l'oxydation s'est faite de façon réversible, les agents réducteurs permettent d'obtenir à nouveau la forme réduite (LOUREIRO). CHEVALIER et Mlle CHORON restaurent le spectre d'absorption de l'acide ascorbique oxydé en faisant passer un courant d'hydrogène sulfuré dans leur solution puis en chassant le gaz au moyen d'un courant d'azote. Ils retrouvent à 1 % près l'absorption initiale.

Au total, nous voyons que in vitro, abandonné à lui-même, l'acide ascorbique s'autoxyde de façon réversible pour donner l'acide dehydrascorbique en passant probablement par un intermédiaire d'oxydation. Cette oxydation semble catalysée par le fer et le cuivre, elle est entravée par les solutions de cyanure, elle est accélérée par l'irradiation au moyen des rayons ultra-violet.

II. — Evolution de l'acide ascorbique au contact du sang

On sait que l'hémoglobine est une chromoprotéide comportant un groupement protidique, la globine qui appartient à la classe des histones, et un copule prostétique qui est un dérivé ferrugineux dans lequel le fer est à l'état ferreux bivalent.

ANSON et MIRSKY emploient le terme *hæm* ou *hème* pour désigner la portion non protidique, le copule prostétique de l'hémoglobine. Mais depuis les travaux de KEILIN, on emploie deux termes différents pour désigner ce copule prostétique: on l'appelle *hæm* lorsqu'il est sous la forme réduite dans l'hémoglobine réduite) et on l'appelle *hématine* lorsqu'il est sous la forme oxydée (dans l'oxyhémoglobine). La combinaison d'un *hæm* avec une substance azotée (NH_3 , pyridine, protéine, etc.) est un *hémochromogène* (POLONOWSKI et LESPAGNOL).

R. LEMBERG, B. CORTIS-JONES et M. NORRIE, en 1937, ont étudié des solutions contenant des hémochromogènes mélangés à de l'acide ascorbique et évoluant à 37°. Ils ont montré que d'une part l'hémochromogène s'oxyde en un produit nouveau, le verdohémochromogène pendant que d'autre part l'acide ascorbique s'oxyde en acide déhydroascorbique. L'évolution se fait en dix minutes. Elle est totale. La transformation de l'hémochromogène de la pyridine en verdohémochromogène comporterait un corps intermédiaire composé par une combinaison ferreuse du type hème- H_2O^2 — pyridine auquel serait peut-être adjoint l'acide ascorbique lui-même. L'hémochromogène se comporterait ainsi comme une oxydase de l'acide ascorbique. Ces mé-

mes auteurs ont au mélange précédent ajouté du glutathion ; ils ont alors vu que la transformation hémochromogène-verdohémochromogène n'est pas entravée, mais que la transformation de l'acide ascorbique en acide déhydrascorbique ne se produit plus.

Enfin LEMBERG, CORTIS-JONES et NORRIE, au mélange précédemment décrit contenant de l'acide ascorbique, de l'hémochromogène pyridine et du glutathion, ont ajouté du glucose et de la glucose deshydrogénase. Ils ont alors vu que l'oxydation de l'hémochromogène est couplée à l'oxydation finale du seul glucose.

Par ailleurs, M. FISCHER a montré que l'oxyhémoglobine oxyde l'acide ascorbique. Cependant, N. BEREND affirme que toute la vitamine se trouve dans la veine porte à l'état réduit. Il faut noter que FISCHER a fait des expériences *in vitro* sans addition de glutathion ou de produit voisin du glutathion.

Au total, il faut penser que, grâce au glutathion, l'acide ascorbique ne s'autoxyde pas dans le sang. Cependant, BORSOOK, DAVENPORT, JEFFREYS et WARNER admettent que la réduction ne se réalise pas dans le sang, mais dans les tissus.

Mais on peut se demander si sous l'influence de grosses doses d'acide ascorbique injecté, il ne se produit pas une atteinte de l'hémoglobine.

Pratiquant des numérations globulaires sur les lapins qui ont été l'objet de nos études, lapins ayant reçu de fortes doses d'acide ascorbique, M. WAHL a noté l'évolution

suivante dans le nombre des globules rouges : Voici les moyennes obtenues qui indiquent une anémie prononcée :

Après 2 semaines de traitement : 5.350.000.

Après 3 semaines de traitement : 4.700.000.

Après 4 semaines de traitement : 4.200.000.

Après 4 semaines 1/2 de traitement : 3.200.000.

III. — L'acide ascorbique au niveau des tissus

Divers points sont à examiner :

1° La répartition de l'acide ascorbique dans les divers tissus de l'organisme animal a été bien étudiée en France par MM. A. GIROUD et C. P. LEBLOND. Il convient de distinguer différents cas.

« Il faut placer tout d'abord les animaux qui synthétisent l'acide ascorbique, c'est-à-dire toutes les espèces à part l'homme, le singe et le cobaye. Pour ceux-ci, le taux au niveau d'un organe donné est sensiblement toujours le même. GIROUD et LEBLOND en déduisent que ce taux caractéristique est en relation avec la fonction de l'organe et mérite le nom de « taux normal ». Voici d'après ces auteurs les chiffres trouvés, en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais (GIROUD, LEBLOND et RATSIMAMAN-GA) :

VERTEBRES

MAMMIFERES

Bœuf : surrénale 133 ; hypophyse 126 ; ganglion lymphatique 51 ; testicule 30 ; foie 29 ; rate 27,5 ; poumon 18,2 ; intestin grêle 18 ; thyroïde 17 ; cerveau 16,61 ; rein 10,8 ; gros intestin 7,3 ; estomac 6,3 ; muscle 2,2.

Cheval : surrénale 197,9 ; hypophyse 136 ; ganglion lymphatique 44 ; testicule 46 ; foie 20,3 ; rate 29 ; poumon 18 ; intestin grêle 17 ; thyroïde 18 ; cerveau 18,5 ; rein 10,2 ; gros intestin 6,8 ; estomac 8 ; muscle 1,3.

Chien : surrénale 143,7 ; hypophyse 101 ; ganglion lymphatique 27,6 ; testicule 45 ; foie 26 ; rate 24,4 ; poumon 14,6 ; intestin grêle 18 ; thyroïde 16,5 ; cerveau 13,4 ; rein 13,8 ; gros intestin 7 ; estomac 4 ; muscle 1,7. -

Mouton : surrénale 104,5 ; hypophyse 139,6 ; ganglion lymphatique 45,4 ; testicule 34 ; foie 20,6 ; rate 34 ; poumon 12,6 ; intestin grêle 20,2 ; thyroïde 31,7 ; cerveau 15,4 ; rein 10,9 ; gros intestin 10,4 ; estomac 6,5 ; muscle 2,55.

Rat : surrénale 294,7 ; hypophyse 106 ; ganglion lymphatique 57 ; testicule 26,3 ; foie 23,6 ; rate 32,6 ; poumon 27 ; intestin grêle 22,6 ; thyroïde 22 ; cerveau 27 ; rein 14,7 ; gros intestin 19 ; estomac 16,6 ; muscle 2,2.

Lapin : surrénale 207 ; foie 17,2 ; rein 10,2 ; muscle 2,5.

Chat : surrénale 104,5 ; foie 20,3 ; rein 14,7 ; muscle 2,2.

OISEAUX

Pigeon : surrénale 276,8 ; foie ; 35,9 ; rein 15,2.

Poulet : surrénale 127 ; foie 30 ; rein 14.

Oie : surrénale 169 ; foie 22 ; rein 28.

INVERTEBRES

ECHINODERMES

Holoturia tubulosa : hépato-pancréas, organes sexuels et excréteur 0,05.

Paracentrotus lividus : tube digestif lavé et branchies 0,20. Appareil génital 0,40.

ANNELIDES

Ascaris megalcephala : intestin 0,11 ; glandes génitales 0,08 ; muscle 0,07.

MOLLUSQUES

Helix pomatia : hépato-pancréas 0,34 ; pied 0,05.

Sepia officinalis : hépato-pancréas 0,30 ; intestin lavé et séché 0,13 ; branchies 0,14 ; muscle du bras 0,03 ; testicule 0,22 ; appareil excréteur 0,06 ; muscle du manteau 0,01 ; glande hypobranchiale 0,06.

CRUSTACES

Homarus vulgaris : hépato-pancréas 0,24 ; branchies 0,05 ; glandes sexuelles 0,08 ; muscle de la région caudale 0,08 ; muscle de la région thoracique 0,02.

INSECTES

Dysticus marginalis : organes sexuels 0,47 ; intestin 0,31 ; muscle 0,06.

ASCIDIES

Microcosmus sulcatus (violet) : hépato-pancréas 0,50 ; branchies 0,30 ; organes excréteurs et sexuels 0,15 ; animal total 0,20.

On voit que les variations de la teneur en vitamine C chez les invertébrés correspondent à ce qui existe chez les vertébrés : richesse particulière des organes glandulaires, teneur moyenne pour le tube digestif et pauvreté relative de la musculature ; il est pourtant essentiel de faire remarquer que les muscles des invertébrés (également plus riches en sarcoplasme et en glutathion) contiennent trois fois plus d'acide ascorbique que ceux des vertébrés.

b) Chez les animaux carençables (homme, singe, cobaye) les chiffres perdent cette homogénéité. Toujours d'après GIROUD et LEBLOND, chez le cobaye, la charge des organes en acide ascorbique varie avec l'apport alimentaire dans une proportion logarithmique. Pour arriver au taux dit normal des autres espèces, il faut des doses très importantes de vitamine C. Chez l'homme, les taux réalisés avec l'alimentation usuelle sont le plus souvent très inférieurs au taux normal. Les chiffres suivants rendent compte du bien-fondé de ces propositions (A. GIROUD, Mmes RABINOWICZ et HARTMANN).

Taux exprimés en mg. d'acide ascorbique pour 100 gr. de tissu frais (méthode de Tillmans).

Enfants : surrénale 48 ; foie 21 ; rein 7.

Adultes : surrénale 15 ; foie 7 ; rein 3.

Vieillards : surrénale 7 ; foie 4 ; rein 2.

Femme de 80 ans qui ingérait régulièrement une forte proportion d'acide ascorbique (sous forme d'oranges) : surrénale 80 ; foie 20 ; rein 6.

c) Chez les animaux carencés il semble bien, d'après GIROUD et LEBLOND, que des quantités appréciables d'acide ascorbique persistent. Après un certain temps de carence le taux des divers organes semble se stabiliser. Ces faits, observés par TILLMANS et SVIRBELEY, puis par EULER, BIRCH et DANN, sont confirmés par GIROUD et LEBLOND qui utilisent pour cela les deux méthodes de dosage de TILLMANS et BEZSSONOF. Ils trouvent au niveau du foie de cobaye carencé 0 mg. 028 de vitamine C, au niveau du rein 0,027, au niveau des surrénales 0,065 et au niveau du testicule 0,060 pour 100 grammes de tissu frais.

2° On doit se demander quel est l'effet des tissus sur l'oxydation de l'acide ascorbique.

Les organes, de même que le sang, qui contiennent d'assez grosses doses de fer et des traces de cuivre devraient agir en augmentant l'autoxydation de l'acide ascorbique. Cependant il n'en est rien.

En 1933, GREEN émit l'opinion que, dans les conditions de pH et d'oxydation des tissus vivants, la forme réduite

de l'acide ascorbique devait être expliquée par la présence de quelque mécanisme antioxydatif.

HUSZAK en 1933, montra que les surrénales (médulo et cortico) produisent une substance qui empêche la réduction du nitrate d'argent par l'acide ascorbique. Cette substance protectrice précipite par l'acétate de plomb.

En 1934, De CARO indiqua que, dans beaucoup de tissus animaux, il existe un tissu protecteur du même type que celui décrit par GREEN. Ce travail montre que l'acide ascorbique placé dans un tampon de phosphate de soude à pH 7,5 reste inoxydé plusieurs heures en présence d'air s'il est mélangé avec de petites quantités de foie, de muscle, de sang, d'ovaires, de nerfs ou de glandes surrénales de cobayes normaux ou scorbutiques. Le matériel protecteur peut être extrait par un tampon de phosphate, par de l'acide trichloracétique ou de l'alcool. Il n'est pas précipité par l'acétate de plomb ou le mercure. Même les extraits privés de glutathion réduit par traitement au mercure ont un pouvoir protecteur.

De CARO et GIANI considèrent que des traces de glutathion oxydé ont échappé à la précipitation et qu'elles jouent un rôle, mais ils pensent qu'il s'agit d'une substance responsable, différente de celle de HUSZAK. Dans ce rapport, il est montré que bien qu'aucune substance protectrice n'existe dans le jus de citron en dehors de son acidité, de petites traces de tissus animaux ou d'extraits de tissus empêchent l'oxydation de l'acide ascorbique dans un tampon de phosphate M/30 à pH 7,4 après séjour à 37°. Cet effet protecteur agit plus en présence des tissus com-

plets, mais des extraits filtrés à travers une membrane de Bechhold maintiennent l'effet protecteur.

MAWSON pratique des extraits actifs avec du foie, de la rate, du cerveau et du muscle de rein. Les effets protecteurs des tissus sont imités parfaitement par la cystine, la cystéine, le glutathion et H^2S . Les extraits traités par l'acétate mercurique retiennent seulement 1/100 de leur activité originale et en même temps perdent la plus grande partie de leur glutathion. Mais si l'on chauffe une heure au bain-marie bouillant un extrait de foie, l'activité protectrice est réduite à 1/10 de sa valeur originale, sans changement de la teneur en glutathion. L'addition de iodacétate est sans effet sur les extraits hépatiques et donne des effets réduits sur l'action protectrice du glutathion. La dialyse, qui permet d'obtenir un produit sans glutathion, donne un effet protecteur.

Il paraît bien que le glutathion est le facteur le plus important. Il n'est pas le seul, comme le croyaient De CARO et GIANI, puisqu'après la dialyse qui l'enlève, l'effet se produit encore. La portion protectrice des extraits bouillis et des extraits obtenus avec l'acide trichloracétique doit être due au glutathion. Mais une partie de substance protectrice n'est pas dialysable. Bien que certains groupes sulfhydriques en petites traces se montrent protecteurs, leur activité n'est pas forcément due aux groupes SH.

De CARO et GIANI ont trouvé des différences considérables dans l'activité protectrice de la cystéine et de la cystine. Mais MAWSON a montré que des quantités égales de ces composés ont des actions protectrices pratiquement

égales, ce qui peut s'expliquer par un équilibre s'établissant entre cystine et cystéine.

ABDERHALDEN a montré que la tyrosine et l'adrénaline sont stabilisées contre toute oxydation par des traces d'acide ascorbique. Ceci a été confirmé par HEARD.

3° Il semble bien que la plus grande part de l'acide ascorbique des tissus est à l'état réduit. C'est cette portion que l'on dose lorsqu'on fait une simple extraction tiehlor-acétique des tissus.

Les auteurs qui ont essayé de réduire par H^2S la portion de l'acide ascorbique qui pourrait être oxydée ont eu des résultats variables et souvent contradictoires. WIETERS aurait obtenu dans des préparations à base de foie une très sérieuse augmentation de l'activité réductrice, mais une oxydation a pu se produire pendant la préparation des extraits hépatiques. P. MANCEAU, POLICARD et FERRAND notent une très importante augmentation de l'activité réductrice des urines après traitement par H^2S et élimination de ce corps par l'azote, mais ces auteurs pensent très justement qu'il ne s'agit pas d'acide ascorbique réduit par le traitement, mais d'autres substances réductrices ayant pris naissance en même temps. Ils considèrent comme dangereux de réunir ainsi des produits non purifiés lorsque la méthode de TILLMANS est utilisée ensuite.

IV. — L'acide ascorbique et les tumeurs

Il est particulièrement important de connaître l'effet de l'acide ascorbique sur les tumeurs car on sait depuis les travaux de WARBURG que les néoplasmes ont une vie d'un

type essentiellement anaérobie, type d'autant plus poussé que le néoplasme est plus malin. Sur ce point nous notons plus particulièrement les résultats suivants.

D'après D. L. WOODHOUSE, chez la souris, le temps de latence entre le badigeonnage au goudron et l'apparition du cancer est inchangé lorsque les injections d'acide ascorbique sont pratiquées. La malignité de la tumeur est accrue : les tissus avoisinants présentent de larges régions nécrotiques.

D'autre part, E. BOYLAND a montré que lorsque le cobaye est soumis à un régime scorbutigène, la teneur en acide ascorbique des tissus diminue, même dans les tissus sarcomateux. L'injection d'acide ascorbique aux animaux carencés est suivie de la rétention sélective de cette substance dans les tissus qui en contiennent habituellement, dans les tissus sarcomateux en particulier.

Par ailleurs, MM. ARLOING, MOREL et JOSSERAND ont essayé l'action d'un certain nombre de complexes métalliques de l'acide déhydrascorbique, complexes ferro, ferrico-plombo-sodique et ferrico-barytico-sodique de l'acide déhydrascorbique sur des cancers humains. Ils ont obtenu un certain nombre d'améliorations et ont noté que si l'action d'un complexe commence à s'épuiser, cette action reprend si l'on substitue à ce produit un autre complexe renfermant le même métal fondamental que le premier.

On voit que les résultats s'inscrivent souvent de façon contradictoire. D'autres exemples puisés dans le domaine de la pathologie pourraient nous conduire aux mêmes

conclusions. Un point semble important en ce moment, c'est de définir les conditions dans lesquelles l'acide ascorbique agit comme excitant ou au contraire comme freinateur de la respiration tissulaire.

V. — L'acide ascorbique et les hormones

On voit par cette étude que l'action de l'acide ascorbique sur les tissus est encore mal connue et nécessite plus d'un éclaircissement. L'action de l'acide ascorbique sur différentes molécules et sur les différents agents d'action biochimique a été beaucoup moins explorée.

1° Un certain nombre d'auteurs ont cherché l'action réciproque de l'acide ascorbique et de la thyroxine ou l'hormone thyroïdienne. Le plus souvent ils notent un antagonisme entre ces deux produits (H. PAAL et K. BRECHT). DEMOLE et IPPEN observent le même résultat, mais en outre ils notent qu'après administration de thyroxine on trouve une diminution du taux de l'acide ascorbique dans le foie et les surrénales.

2° Les relations avec l'adrénaline ont été assez largement étudiées.

DAOUD et AYYADI en 1936 ont montré que le taux de la glycogénolyse causée par l'adrénaline évolue parallèlement au degré de saturation du corps en vitamine C. Pour expliquer ce parallélisme, deux suggestions furent faites : la première fut que le degré de saturation du corps en vitamine C détermine directement le taux de la glycogénolyse ; la seconde est que la vitamine sous sa forme ré-

duite empêche l'adrénaline de s'oxyder et augmente ainsi la glycogénolyse.

On peut en effet penser que la vitamine stabilise l'adrénaline, d'après les travaux de SZENT-GYÖRGYI (1928), HEARD et RAPER (1933), EULER et KLUSSMANN. Plus récemment HEARD et WELCH en 1935, étudiant un liquide de Ringer-Locke ayant perfusé des glandes surrénales, trouvèrent qu'il reste actif sur la pression aussi longtemps qu'il contient de l'acide ascorbique réduit. A l'encontre de ce résultat, il convient de citer celui de DEUTSCH et SCHLAPP qui en 1935 ont trouvé une réduction de la teneur en adrénaline des glandes surrénales du cobaye en inanition sans noter en même temps un changement dans la teneur en acide ascorbique, car le régime diminué qui leur avait été donné contenait des plantes vertes en quantité suffisante pour maintenir la teneur en acide ascorbique. Ils en conclurent qu'il n'y avait pas de relation précise entre l'acide ascorbique et l'adrénaline.

Ainsi la relation entre ces deux substances, même dans la glande surrénale qui est si riche en l'une et en l'autre, reste obscure. Il serait naturel en effet de penser que la glande surrénale qui produit de l'adrénaline réalise un système protecteur et que ce système protecteur n'est autre que l'acide ascorbique. Mais on a fait remarquer que le foie qui contient aussi d'assez grandes quantités de vitamine C est particulièrement actif pour la destruction de l'adrénaline.

En 1938, DAUD et AYYADI entreprirent de nouvelles recherches. *In vitro* au pH 7, l'acide ascorbique n'a qu'un pouvoir protecteur limité sur l'action de l'adrénaline sur la pression. Il semble que cette protection consiste dans un empêchement temporaire de l'oxydation secondaire d'un premier produit d'oxydation de l'adrénaline. Ce produit primaire serait l'orthoquinone correspondant à l'adrénaline. Son activité sur la pression est inférieure à celle de l'adrénaline. Ce produit est en outre incolore. Bientôt cependant, le mélange se colore et les auteurs pensent que cette coloration est due à une réaction entre le produit d'oxydation primaire de l'adrénaline et le produit de l'oxydation de l'acide ascorbique. On pense qu'il s'agit d'un autre produit orthoquinonique. Celui-ci a une activité sur la pression égale à celle du produit orthoquinonique incolore.

In vivo, de petites doses de vitamine C ajustée au pH physiologique sont sans action sur l'activité de l'adrénaline. La vitamine C n'augmente ni en amplitude ni en durée les effets de l'adrénaline sur la pression sanguine. Enfin la destruction de l'adrénaline est la même chez l'animal normal intact et chez l'animal saturé de vitamine C. On voit que ce dernier travail plaide plutôt en faveur d'une indépendance de la vitamine C et de l'adrénaline.

3^e Mme RANDOIN et Mlle RAFFY utilisant la méthode séro-interférométrique, n'ont pas trouvé de différence nette de l'activité glandulaire entre le sang des cobayes normaux et celui des cobayes en avitaminose C.

VI. — L'acide ascorbique et les diastases

A côté de ces actions se réalisant entre l'acide ascorbique et les hormones il serait intéressant de pouvoir définir l'action de la vitamine C sur les diastases. P. KARRER et F. ZEHENDER ont montré que l'acide ascorbique seul agit faiblement sur l'arginase, mais qu'avec les ions ferreux et ferriques il se produit une activation très forte tandis qu'en compagnie de Ca et de Cu il ralentit ou supprime l'action de l'enzyme. L'acide déhydrascorbique agit d'une façon analogue, mais est un peu moins influencé par Fe^{++} , Fe^{+++} , Ca.; les sels de Cu sont des poisons très forts.

VII. — Modes d'expérimentation

1° Il serait intéressant, au point de vue expérimental et pour interpréter nos résultats en particulier, de connaître la différence dans le comportement de l'acide ascorbique suivant qu'il a été administré *per os* ou en injection. Peu de renseignements se trouvent dans la littérature. CARTENI et MORELLI ont observé que 35 % de l'acide ascorbique additionné au suc gastrique de l'homme normal sont détruits en 4 h. 1/2. La destruction est encore plus rapide avec la bile humaine et le suc duodénal.

Par ailleurs, M. REISER a montré que lorsqu'on administre l'acide ascorbique *per os*, une très faible quantité seulement de ce corps se trouve éliminée par l'urine, tandis que si on l'administre par voie parentérale (sous-cutanée ou intraveineuse), on trouve dans l'urine environ 67 % de la quantité injectée.

2° Tous les auteurs qui ont travaillé ces questions ont le plus souvent injecté des doses assez faibles d'acide ascorbique. Rares sont ceux qui ont injecté des doses élevées atteignant par exemple 0 gr. 10 par jour chez le lapin en des injections répétées pendant plusieurs mois. V. DEMOLE, en 1934, affirme n'avoir trouvé aucune lésion à l'autopsie d'animaux tels que l'axolotl, la grenouille, le rat, le cobaye le lapin, le chat, le chien soumis longtemps à de fortes doses. Leur examen fut anatomo-histologique et porta seulement sur les organes suivants : le rein, le pancréas, le cœur, le foie et le poumon. Comme on le voit, aucune recherche ne fut pratiquée sur l'os.

VILLARD, VIALLEFONT et DIACONO, étudiant des lapins soumis pendant quatre mois à des injections quotidiennes de 0 gr. 10 d'acide ascorbique, ne notèrent comme troubles que des échytnoses sous-conjonctivales fugaces sans aucune autre manifestation locale qui pût être décelée à la loupe, à l'ophtalmoscope ou à la lampe à fente.

Chez le cobaye soumis au même traitement, ces auteurs notèrent une teinte brun-olive des sclérotiques, accompagnée de troubles du pelage, de troubles digestifs avec un arrêt plus net du développement pondéral et un abaissement relatif du taux moyen de la calcémie (0,069 au lieu de 0,076). Ils avaient été radiographiés avant et après la mise au régime hypervitaminé C. Les clichés n'ont pas permis de vérifier la raréfaction osseuse des membres, mentionnée par quelques auteurs, pas plus que l'exophtalmie et les hémorragies oculaires également signalées.

CHAPITRE V

RECHERCHES PERSONNELLES AU SUJET DE
L'ACTION DE DOSES IMPORTNATES
D'ACIDE ASCORBIQUE
SUR LA CONSTITUTION DE L'OS

C'est en nous attachant à l'aspect du problème qui embrasse les oxydo-réductions que nous avons étudié l'action de l'acide ascorbique. Nous avons par contre négligé complètement son rôle en tant que vitamine. Afin d'obtenir des résultats aussi nets que possible, nous avons cru bon d'utiliser de grosses doses d'acide ascorbique, et puisque le problème était limité au côté oxydo-réduction, nous n'avons pas utilisé le cobaye, mais le lapin, animal non carenable chez lequel les études chimiques sont plus faciles à réaliser que chez le cobaye par suite de la plus grande taille de l'animal.

Le protocole utilisé pour la préparation des animaux a été le suivant : Nous avons utilisé des lapins d'un poids de 2 kg 500 environ nourris avec de l'avoine, du son, des betteraves, et chez chacun d'eux des injections quotidiennes d'acide ascorbique ont été pratiquées. Nous avons pour cela utilisé la « Laroscorbine Roche ». La dose quotidienne

a été de 0 gr. 10 par animal. Les injections ont été poursuivies pendant un mois. Elles ont été pratiquées sous-cutanées dans la fosse sous-épineuse.

Les animaux ont été étudiés au point de vue de leurs modifications sanguines par Mlle ROMANETTO. Comme on peut s'en rendre compte d'après les chiffres suivants, les variations sont très faibles (résultats pour 1.000).

Lapins traités. — Glycémie : 0,87 à 1,05. — Phosphore : 0,032 à 0,034. — Cholestérol : 0,31 à 0,33. — Urée : 0,12 à 0,15. — Pigments : néant. — Acide urique : 0,11 à 0,14. — Créatinine : traces.

Lapins normaux. — Glycémie : 0,90 à 1,05. — Phosphore : 0,031 à 0,034. — Cholestérol : 0,30 à 0,50. — Urée : 0,11 à 0,14. — Pigments : néant. — Acide urique : 0,12. — Créatinine : traces.

Au niveau de l'os, nos études ont porté sur des lapins : les conditions de traitement ont été indiquées précédemment. Nos résultats sont exprimés dans le tableau suivant. Dans le 1^{er} lot, aussi bien pour les lapins normaux que pour les traités, les différents dosages ont été pratiqués sur le mélange des poudres d'os de quatre lapins, diaphyses et épiphyses séparées, tandis que pour le second lot il y a un animal traité et un normal. L'indice d'iode a été recherché sur le mélange de l'alcool-éther qui a servi à extraire les graisses des diaphyses et des épiphyses.

		% d'os desséché dégraissé			Ca des cendres		% d'os desséché		CO ²
		P	Ca	CO ²			cendres	P	
LOT I	Traité	13,72	32,23	4,58	44,84	70,37	13,43	31,55	4,48
	Epiphyse	8,16	23,98	3,07	46,55	45,06	7,14	20,97	2,69
	Diaphyse	14,06	32,68	4,61	44,06	73,02	13,84	32,17	4,53
	Epiphyse	9,37	24,34	3,34	44,89	53,15	9,18	23,85	3,27
LOT II	Traité	14,59	32,83	4,65	44,19	72,67	14,27	32,11	4,54
	Epiphyse	10,22	26,05	3,75	46,83	44,80	8,22	20,98	3,01
	Diaphyse	14,39	32,32	4,59	43,76	73,56	14,33	32,18	4,57
	Epiphyse	9,53	24,60	3,68	45,41	49,69	8,74	22,56	3,36
		Moyenne					71,52	13,85	4,51
					{ Traité		44,93	7,68	2,85
					{ Epiphyse		73,29	14,08	4,55
					{ Diaphyse		51,42	8,96	3,31
					{ Epiphyse				

En examinant ces résultats, on s'aperçoit facilement qu'il existe une diminution importante, surtout marquée pour les épiphyses, des cendres, du Ca, du P et du CO_2 . Il semble cependant, après un examen plus attentif, que cette diminution est la conséquence de l'augmentation des graisses. C'est donc une véritable dégénérescence graisseuse, d'ailleurs déjà visible au simple examen macroscopique de la poudre d'os qui paraissait comme imprégnée d'huile. L'étude de l'indice d'iode de ces graisses montre par ailleurs un abaissement marqué chez les lapins ayant reçu de l'acide ascorbique, ce qui traduit un ralentissement du catabolisme des lipides.

Histologiquement, un examen de fragments de fémur pratiqué par M. le Professeur Agrégé CROIZAT a donné les résultats suivants :

1° Une diminution assez nette du nombre des cellules de la trame réticulée et de la série hématique.

2° Les mailles du tissu médullaire sont légèrement plus élargies et sont le siège d'une infiltration graisseuse plus importante que celle du fragment d'os normal.

Le myélogramme obtenu par apposition sur lame de fragments de moëlle osseuse ne montre pas de modification sensible par rapport à celui d'un lapin normal, si ce n'est une proportion un peu forte d'érythroblastes. Voici les résultats obtenus :

Hémohistioblastes 0 ; hémocytoblastes 1.

Myéloblastes 1 ; promyélocytes 2 ; myélocytes 13 ; métamyélocytes 11 ; polynucléaires neutrophiles 21 ; polynucléaires éosinophiles 0.

Proérythroblastes 4 ; erythroblastes basophiles 8 ; érythrobl. métachromatiques 25 ; éryth. orthochromatiques 10.

Moyens mononucléaires 4 ; lymphocytes 0.

CHAPITRE VI

INFLUENCE DE L'ALIMENTATION SUR LA CONSTITUTION OSSEUSE

Le rôle de l'alimentation sur l'ossification constitue une question d'une extrême complexité. Plus d'un point en est d'ailleurs encore actuellement discuté.

MOURIQUAND résumait en 1924 la question de la façon suivante : « La nutrition osseuse — ou tout au moins certaines nutritious osseuses, car toutes ne sont pas comparables (celle de l'enfant semble dans une certaine mesure pouvoir être rapprochée à ce point de vue de celle du cobaye) — est maintenue dans son état normal par un régime équilibré dans lequel entrent, outre les calories indispensables, les amino-acides, les sels minéraux et les trois vitamines nécessaires. Si cet équilibre alimentaire est rompu, plusieurs cas, d'après nos expériences peuvent se présenter. Si la déficience est complexe (pluri-carence) et porte sur les amino-acides, les sels, le liposoluble, la nutrition générale est tardivement atteinte et la nutrition osseuse ne l'est que peu ou pas à condition que soient

maintenues des doses suffisantes d'antiscorbutiques. Mais si l'on ajoute à ce régime déficient un facteur ostéodystrophique de moyenne activité, l'équilibre nutritif du squelette est rompu et des signes de lésions osseuses apparaissent. Ils disparaissent si, la cause pathogène étant maintenue, on équilibre à nouveau le régime, en lui rendant les substances indispensables dont on l'a privé. »

Depuis cette époque, de nombreux faits nouveaux parfois d'une importance capitale sont venus s'inscrire, mais la complexité du problème reste considérable. L'interférence des faits simples bien connus est encore insuffisamment étudiée, et l'on peut dire qu'actuellement l'influence de l'alimentation sur le système osseux, et tout particulièrement le système osseux de l'adulte, ne peut pas s'exprimer en proposition simple.

Nous ne saurions, dans le cadre de cette étude, faire entrer une analyse complète des différents facteurs connus aujourd'hui. Nous nous contenterons de rappeler les quelques notions qui ont été recueillies sur le rôle de l'alimentation carnée. Celles-ci sont d'ailleurs peu nombreuses. On relève, dans ARMAND GAUTIER, l'indication que les os des herbivores et des cétacés sont plus riches en carbonates terreux que ceux des carnivores et des omnivores. Les os des animaux granivores sont plus chargés de sels calcaires et de silice.

Il faut noter en outre que cette alimentation exclusive ne manquerait pas de provoquer chez les mammifères une acidose qui peut-être se réalise aussi chez les oiseaux et qui sans doute joue un rôle dans les phénomènes de calcification et de décalcification.

Enfin nous rappelons que chez les oiseaux, l'évolution des substances azotées se fait normalement vers l'acide urique et que cet acide est vraisemblablement synthétisé par leur organisme à partir de l'urée et de l'acide lactique (MINKOWSKI).

Expériences personnelles

Notre expérience personnelle sur ce sujet est assez réduite. Il s'agit d'une étude osseuse pratiquée chez des poulets ayant reçu une alimentation uniquement carnée. Le but poursuivi fut la recherche d'une hyperuricémie expérimentale et d'accidents du type goutteux, ceci dans un but d'expérimentation hydrologique. Destinée à constituer une première exploration, cette expérience n'a porté que sur deux animaux traités et un témoin. Les animaux étant sacrifiés après que des résultats positifs furent obtenus, nous avons profité de cette occasion pour étudier comparativement l'état osseux chez les uns et les autres. Nos résultats ne portent donc que sur trois animaux. Nous croyons cependant devoir les rapporter ici, car ils constituent une première exploration dans une voie qui semble devoir être féconde.

Protocole expérimental. — Nous avons utilisé des poulets adultes d'un poids d'environ 2 kg. 600. Les animaux élevés dans des cages différentes étaient nourris, le témoin avec des graines, les animaux en expérience avec de la viande, chacun recevant 38 gr. environ de muscle de bœuf hâché par jour.

L'expérience s'est prolongée pendant deux mois, et diverses observations ont été possibles :

1° Au point de vue clinique, à la fin de la 3^e semaine, les animaux qui maigrissaient ont présenté une difficulté à la marche qui semblait devoir être rattachée à un trouble de l'extension de l'articulation du genou et de l'articulation intermétatarsienne. La marche était lente et prudente : l'animal hésitait à poser les pattes sur le sol. Les mouvements de l'articulation de la hanche paraissaient normaux de même que les mouvements des articulations métatarsophalangiennes et interphalangiennes. L'articulation intermétatarsienne paraissait légèrement œdématiée ; cependant sa compression moyenne n'arrachait à l'animal aucun cri de douleur.

2° Divers examens furent pratiqués sur le sang de ces animaux par Mlle ROMANETTO. Ils ont donné les résultats suivants (pour 1.000) :

Poulets traités. — Urée : néant. Acide urique : 0,114. Pigments biliaires : néant. Cholestérol : 2,50. Glycémie : 0,90. Créatinine : néant. P : 0,060. Numération globulaire : 1.450.000 puis 1.300.000.

Poulet normal. — Urée : 0,05. Acide urique : 0,084. Pigments biliaires : néant. Cholestérol : 0,70. Glycémie : 0,92 ; Créatinine : néant. P : 0,045. Numération globulaire : 2.900.000

On voit que ces animaux ont présenté une augmentation de l'uricémie, de la phosphorémie et de la cholestérolémie, syndrome chimique qui rappelle évidemment

celui que l'on observe généralement dans l'arthritisme humain, mais qui, nous ne l'ignorons pas, peut être réalisé par de nombreux mécanismes biochimiques.

3° Des radiographies ont été pratiquées en série pendant toute la durée de l'évolution du syndrome mais n'ont révélé aucune anomalie.

4° L'étude chimique des os nous a donné les résultats suivants. Pour les premiers, les dosages ont été faits sur le mélange des poudres d'os des deux poulets traités.

		% d'os desséché et dégraissé			Ca des cendres	% d'os desséché			
		P	Ca	CO ²		cendres	P	Ca	CO ²
Traité	Diaphyse	10,73	28,56	4,59	44,42	63,72	10,63	28,30	4,54
	Epiphyse	8,38	20,33	3,88	42,28	40,33	7,02	17,05	3,25
Normal	Diaphyse	11,54	28,62	4,38	43,90	63,71	11,27	27,97	4,28
	Epiphyse	8,68	21,56	3,65	43,66	37,34	6,56	16,30	2,76

Acide urique	Epiphyses	{	Traité : 0,04 %.
		{	Normal : 0,018 %.
	Diaphyses	{	taux très faibles, sensiblement identiques, inférieurs à 0,01 %.

De ce tableau, il semble résulter que ce qui prime, c'est avant tout la perte en substance grasse. Il en résulte forcément une condensation osseuse, avec prédominance de tous les éléments au niveau de l'épiphyse. Nous ne sommes plus ici en présence d'os jeune d'un type essentiellement phosphaté calcique, mais plutôt d'une condensation relative de la substance minérale, par suite de la disparition d'une partie de la substance organique.

Plus intéressante est l'augmentation de l'acide urique au niveau de l'épiphyse, qui représente un phénomène chimique rappelant les dépôts uriques des gouteux.

Dans l'ensemble, il apparaît que chez l'oiseau, un syndrome rappelant par certains points les manifestations goutteuses puisse être obtenu par une alimentation uniquement carnée prolongée pendant plusieurs mois. L'action des eaux minérales du type Vittel ou Evian sur ces syndromes pourra sans doute donner des résultats intéressants. De toute façon un système d'études paraît pouvoir être constitué d'après ces recherches.

CHAPITRE VII

LE SOUFRE DE L'OS DOSAGES DANS LES EPIPHYSES ET LES DIAPHYSES CHEZ LE COBAYE

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de rechercher les teneurs comparées en soufre des épiphyses et des diaphyses osseuses. Nous avons constitué des mélanges osseux répartis en 2 lots en mélangeant pour chaque lot des os provenant de 6 cobayes mâles nourris depuis 2 mois avec des mélanges de son et de légumes verts. Nous avons étudié séparément dans chaque lot les fémurs et les humérus et dans chaque os les diaphyses et les épiphyses. Les dosages ont été pratiqués sur les poudres d'os desséchées et dégraissées.

Les résultats sont les suivants :

1° *Fémur-a*) diaphyse, 1^{er} lot : 0,123 % ; 2^e lot : 0,162 % ; moyenne : 0,142 %.

b) Epiphyse, 1^{er} lot : 0,300 % ; 2^e lot : 0,210 % ; moyenne : 0,255 %.

2° *Humérus-a*) diaphyse, 1^{er} lot : 0,117 % ; 2^e lot : 0,078 % ; moyenne : 0,098 %.

b) épiphyse, 1^{er} lot : 0,222 % ; 2^e lot : 0,270 % ; moyenne : 0,246 %.

La lecture de ces résultats qui représentent au total des dosages portant sur 12 cobayes nous conduit à la conclusion d'une prédominance très marquée du soufre épiphysaire sur le soufre diaphysaire ; les variations sont du simple au double : le fait que dans l'épiphyse prédomine la matière organique laisse penser que le soufre est lié à cette dernière. Les cartilages avaient été sectionnés, mais il s'agit sans doute d'une influence de la région juxta-cartilagineuse.

Un dosage de la substance organique de l'os nous a en effet donné les résultats suivants :

1° *Fémur-a)* diaphyse, 1^{er} lot : 31,91 % ; 2^e lot : 31,15 % ; moyenne : 31,53 %.

b) épiphyse, 1^{er} lot : 46,04 % ; 2^e lot : 44,22 % ; moyenne : 45,13 %.

2° *Humérus-a)* diaphyse, 1^{er} lot : 32 % ; 2^e lot : 31,25 % ; moyenne : 31,62 %.

b) épiphyse, 1^{er} lot : 48,51 % ; 2^e lot : 44,53 % ; moyenne : 46,52 %.

Ainsi l'élément organique et le soufre prédominent dans les mêmes cas.

Enfin, notons que les chiffres en soufre trouvés même au niveau de l'épiphyse qui pourtant est la plus riche des régions de l'os restent très inférieurs à ceux notés par POLICARD et REVOL, au niveau du cartilage articulaire (1,5 % environ du poids sec).

CHAPITRE VIII

APERÇU GENERAL

SUR LES TROUBLES DE L'OSSIFICATION

INTERET DU RAPPORT P/CO_2

Si l'on cherche à classer les affections osseuses d'après le retentissement qu'elles peuvent avoir sur la constitution chimique de l'os, on est tout naturellement amené à concevoir le plan logique suivant.

L'os résultant de l'action de trois grands facteurs : la substance organique qui sert de support d'adsorption, les phosphatases qui concentrent les ions phosphates au niveau du tissu préosseux, la concentration ionique en P et en Ca de la lymphe qui apporte les éléments salins qui seront fixés, il semble que les différentes affections qui retentissent sur l'os puissent être catégorisées en trois grands chapitres, chacun d'entre eux étant réservé à l'étude d'un des troubles de chacun des trois facteurs que nous venons d'énumérer.

Une telle classification est malheureusement actuellement impossible. La chimie des protides, encore qu'ayant fait ces derniers temps d'énormes progrès, est encore cependant insuffisamment connue pour permettre de déceler les anomalies du support protidique de l'os. Un essai d'étude systématique du collagène d'os normal et d'os d'animaux traités par la parathormone, réalisé par MM. ENSELEME et CHARLIN ne leur a donné que des résultats sans valeur appréciable.

L'étude des phosphates a montré l'extrême fréquence de leurs anomalies. Rien ne permet de dire, d'après les résultats purement quantitatifs publiés jusqu'à présent si les variations observées représentent la cause ou l'effet du trouble osseux. Seule, l'étude de la concentration ionique permet, dans quelques cas d'ailleurs rares, et bien qu'elle soit réalisée dans ces cas non au niveau de la lymphe mais au niveau du sang, de soupçonner un mécanisme pathologique précis.

Renonçant à une classification logique et complète, nous allons nous contenter d'indiquer dans ce chapitre quelques catégories qui nous paraissent pouvoir être individualisées par l'étude chimique des os malades. L'esquisse que nous allons donner ne sera, nous le savons, qu'incomplète et provisoire. Elle ne constitue à nos yeux qu'un premier effort vers une synthèse et une classification nécessaires pour aboutir à des pathogénies précises des troubles osseux.

Nous distinguerons :

I. — LES TROUBLES PORTANT SUR LA SUBSTANCE GRAISSEUSE DES OS

L'accumulation de lipides au niveau de l'os est un phénomène qui semble assez banal et nous nous garderons bien d'en faire un critère de classification, mais nous voulons ranger dans cette première catégorie des affections qui semblent se résumer en un trouble lipidique se traduisant par une augmentation ou une diminution des dépôts graisseux. Ainsi conçue, cette catégorie semble assez naturelle. Elle correspond à un trouble de la nutrition de la substance organique de l'os.

1°) Le plus souvent c'est une augmentation des graisses que l'on constate. C'est ainsi que sous l'action de l'acide ascorbique, dans les conditions de nos expériences, nous assistons à une sorte de dégénérescence grasseuse de la substance organique et à une diminution correspondante des sels déposés. Sans pouvoir en apporter la preuve certaine, nous avons cependant été conduits à admettre que cette modification est le résultat d'une respiration lente de la portion organique de l'os. En outre on note un ralentissement du catabolisme des graisses marqué par l'abaissement de l'indice d'iode.

Il nous a paru intéressant d'étudier le rapport P/CO^2 . Il s'agit bien entendu du P total, et si la signification de ce rapport n'est pas absolue, son augmentation plaide cependant en faveur d'une néoformation osseuse. Nous avons trouvé :

Traité. — Diaphyse : 3,07. Epiphyse : 2,69.

Normal. — Diaphyse : 3,09. Epiphyse : 2,70.

On peut admettre qu'il n'y a pas de modification et cette conclusion est en faveur de la non-formation d'os jeune.

2°) Il est des cas où la substance grasseuse diminue. Nous en rapportons un exemple : c'est le cas de nos poulets qui ayant subi un régime carné exclusif, voient diminuer leurs lipides et augmenter la concentration des éléments minéraux de leurs os.

Leur rapport P/CO^2 évolue de la façon suivante :

Traité. — Diaphyse : 2,34. Epiphyse : 2,16.

Normal. — Diaphyse : 2,63. Epiphyse : 2,37.

Comme on le voit, ce rapport est abaissé, ce qui montre bien que malgré la condensation apparente des sels, aucu-

ne ossification nouvelle ne s'est faite. L'os, qui perd une partie de sa substance organique, augmente automatiquement, par le jeu mathématique des calculs, son pourcentage en sels. Par sa partie vivante, l'os a seulement participé à la fonte lipidique provoquée par l'alimentation carnée et l'état d'acidose qu'elle déclenche.

II. — Anomalies dues à un trouble de la concentration ionique

Un certain nombre d'anomalies osseuses semblent évidemment dues à un abaissement ou à une augmentation massive des ions Ca et P au niveau du sérum. On peut penser que dans le cas de l'abaissement le produit des ions est insuffisant pour provoquer la formation de phosphate tricalcique et que dans le cas de l'augmentation, le produit ionique est tel que des calcifications multiples se réalisent dans l'organisme même en dehors du tissu osseux. Ce sont surtout les abaissements du produit ionique au niveau du sérum qui sont observés en clinique. On les rencontre constamment ou presque dans les avitaminoses D provoquées ou spontanées. On en rencontre aussi dans un certain nombre de rachitismes et d'ostéomalacies de carence. PAVIOT, ENSELME et GIRARD en ont même rencontré dans les ostéomalacies de vieillesse. Il y a donc là toute une catégorie dont le mécanisme semble bien défini. Il ne faudrait cependant pas croire que tous les cas de rachitisme et tous les cas d'ostéomalacie reconnaissent cette cause. Nous ne voulons pour preuve de l'existence d'un grand nombre d'exceptions que la normalité absolue du produit ionique chez un certain nombre de ces malades et que la

présence dans les urines de certains d'entre eux (en particulier dans l'ostéomalacie postpuerpérale) de produits anormaux de la décomposition des protides (albumoses de BENCE-JONES). On a donc réuni là probablement, sous des dénominations médicales semblables, des cas pathologiques de mécanismes entièrement différents. Nous pensons que seuls entrent dans le chapitre que nous venons de décrire, les malades qui ont une modification importante du produit ionique de leur sérum.

III. — Troubles par enrichissement de l'élément minéral de l'os

Pour des raisons sans doute diverses parmi lesquelles paraît cependant prédominer une augmentation de l'action phosphatasique, un certain nombre de formations osseuses s'enrichissent en élément minéral sous des influences diverses.

..Nous en rapportons dans notre étude deux exemples :

1°) Sous l'influence d'un transplant, nous avons vu que la partie minérale de l'ensemble du squelette paraissait s'enrichir. Le rapport P/CO^2 dans ces cas subissait les variations suivantes :

Inclus. — Fémur diaphyse : 3,59. Fémur épiphyse : 3,45.

Humérus diaphyse : 3,46. Humérus épiphyse : 3,34.

Témoin. — Fémur diaphyse : 3,21. Fémur épiphyse : 2,90.

Humérus diaphyse : 2,21. Humérus épiphyse : 2,97,

On voit qu'il y a une augmentation nette de ce rapport,

2°) Nous rapprocherons du cas précédent, dans cette même catégorie, l'activité plus grande de l'ossification

obtenue sous l'action des eaux chlorurées sodiques, Dans les cas que nous avons mentionnés, le rapport P/CO^2 est le suivant

Traité : 4,70. Normal : 4,18.

On voit qu'il s'agit encore d'une augmentation de ce rapport.

3°) Nous rangerions volontiers dans cette même catégorie les produits de calcification anormale recueillis au niveau de différents organes et analysés par KRAMER et SHEAR, qui ont obtenu les chiffres suivants :

Calcification de thyroïde. — Ca : 20,1 — P : 9,1 — CO^2 : 3,18 % d'os desséché dégraissé. — P/CO^2 : 2,86.

Ganglion lymphatique tuberculeux. — Ca 32,9 — P : 14,7. — CO^2 : 4,7 % d'os desséché dégraissé. — P/CO^2 : 3,12.

Dépôt de valvule aortique. — Ca : 27,4 — P : 11,6 — CO^2 : 4,5 % d'os desséché dégraissé — P/CO^2 : 2,58.

Capsule de rate. — Ca : 23,3 — P : 10,5 — CO^2 : 4,41 % d'os desséché dégraissé — P/CO^2 : 2,38.

Nodule lymphatique pulmonaire. — Ca : 33,2 — P : 14,7 — CO^2 : 4,89 % d'os desséché dégraissé — P/CO^2 : 3,00.

Nodule lymphatique mésentérique. — Ca : 30,6 — P : 13,6 — CO^2 : 4,79 % d'os desséché dégraissé — P/CO^2 : 2,84.

Utérus fibreux calcifié (3 échantillons). — Ca : (23,8 ; 29,7 ; 25,7) — P : (9,2 ; 11,7 ; 10,2) — CO^2 : (3,69 ; 4,11 ; 3,96) % d'os desséché dégraissé — P/CO^2 : 2,49 ; 2,84 ; 2,57.

Comparés par exemple au chiffre qui va être fourni par une clavicule saine on voit que le rapport P/CO^2 paraît augmenté.

Il est évidemment difficile d'établir une comparaison entre un os vrai et un dépôt osseux. Cependant ce que nous comparons dans les deux cas, c'est la portion minérale déposée. Nous n'avons d'ailleurs rapporté ces résultats de KRAMER et SHEAR qu'à titre d'exemple.

En résumé, dans cette troisième catégorie semblent se ranger naturellement les cas d'hypercalcification ou d'ossification anormale. Tous ont un rapport P/CO^2 augmenté qui plaide en faveur d'une néoformation d'os jeune.

IV. — LES ANOMALIES COMPLEXES DE L'OS

Il est une catégorie bien naturelle d'anomalies osseuses qui constitue un mélange complexe des faits observés précédemment.

Elle réunit ces nombreuses affections osseuses dans lesquelles sur un même os se rencontrent des raréfactions le plus souvent périvasculaires pouvant aller jusqu'à la formation de véritables cavernes et des condensations en des portions voisines de l'os. Nous en donnerons quelques exemples.

1° Alors que l'infection raréfie et creuse le tissu osseux au niveau de la formation purulente, nous avons vu qu'elle condensait au contraire l'os à la périphérie du foyer infectieux. Sur les mastoïdes étudiées, le rapport P/CO^2 a été le suivant :

Témoin : 2,62 — Malades : 2,83 — 2,87 — 2,92.

On voit que comme dans les catégories précédentes il y a augmentation du rapport P/CO^2 . L'os néoformé est du type jeune normal.

2° Nous rapprochons de ce cas l'étude réalisée par MM. ENSELME et CHEVASSU sur des os de malades atteints de maladie de Recklinghausen. Ayant étudié une clavicule saine et une clavicule atteinte chez un même malade, ils obtinrent les résultats suivants :

Clavicule décalcifiée. — Ca : 27,93 — P : 7,38 — CO^2 : 3,52 % d'os desséché dégraissé — P/CO^2 : 2,10.

Clavicule saine. — Ca : 30,97 — P : 8,85 — CO^2 : 4,84 % d'os desséché dégraissé — P/CO^2 : 1,83.

Dans le processus complexe de la maladie de Recklinghausen se réalisent côte à côte des décalcifications et des recalcifications, les premières prédominant largement. Cette supériorité des décalcifications se traduit dans l'analyse précédente par une diminution de tous les éléments minéraux de l'os. Mais la complexité des phénomènes qui amènent le dépôt dans des zones voisines, des éléments arrachés aux foyers de décalcification, est sans doute responsable de l'augmentation du rapport P/CO^2 que nous constatons ici.

Nous bornerons là cette classification qui, nous le répétons, ne nous paraît que provisoire. Nous attirerons cependant l'attention sur l'intérêt pratique du rapport P/CO^2 . Nous n'ignorons pas que pour qu'il ait toute sa signification il conviendrait, ainsi que le font les auteurs américains de le calculer sur le P et sur le CO^2 liés uniquement au Ca. Pour procéder de cette manière, il est indispensable de doser tout d'abord le Mg de l'os, et ce dosage

encore mal au point risque d'introduire dans le calcul de ce coefficient des erreurs regrettables. C'est pourquoi quelles que soient ses imperfections, nous pensons qu'il est préférable de le **conserver ainsi**. Tel qu'il est il nous a paru au long de ce chapitre capable de donner quelques indications utiles sur la nature de l'os néoformé et partant sur les processus qui ont contribué à sa formation.

APPENDICE

TECHNIQUE D'ANALYSE DE L'OS

1° PREPARATION DE LA Poudre DESSECHEE

L'os est soigneusement nettoyé, débarrassé à l'extérieur des tissus et tendons, à l'intérieur de la moelle, et essuyé au moyen d'un linge sec. Les diaphyses et épiphyses séparées sont desséchées à l'étuve et broyées au mortier jusqu'à obtention d'une poudre grossière qui est ensuite portée à l'étuve à 100 degrés jusqu'à poids constant (24 heures au minimum).

2° DOSAGE DES CENDRES

Peser exactement à 1/10 mgr. dans une capsule de platine tarée environ 200 mgr. de poudre desséchée que l'on étale sur le fond de la capsule. Celle-ci est ensuite portée sur un bec Mecker et l'on incinère avec des précautions d'usage jusqu'à cendres blanches, opération qui n'est pas toujours sans danger pour les capsules de platine. Il arrive en effet que celles-ci soient perforées, aussi vaut-il mieux employer une vieille capsule, impropre à d'autres usages.

Les cendres sont pesées, ce qui permet d'évaluer leur taux dans 100 grammes d'os desséchés.

3° PREPARATION DE LA SOLUTION

POUR L'ANALYSE MINERALE

Réactifs :

- 1) Alcool-éther, mélange à volumes égaux ; l'alcool doit être bien neutre.
- 2) Acide chlorhydrique 5 N.

Technique. — La poudre d'os desséché est épuisée par le mélange alcool-éther que l'on renouvelle trois fois à 24 heures d'intervalle, en décantant chaque fois aussi complètement que possible. En dernier lieu on sèche à l'étuve à 50°.

La poudre ainsi obtenue est divisée en deux parts dont la plus importante, au moins 100 mgr., est pesée exactement à 1/10 mgr., transférée dans un bécher et traitée par 5 cm³ d'acide chlorhydrique 5 N. Après un quart d'heure d'agitation, on transvase, sans perte, dans un ballon jaugé de 100 cm³. On rince le bécher avec l'eau distillée qui sert à compléter jusqu'au trait de jauge. On passe ensuite sur filtre Berzélius : cette solution renferme, pour 100 cm³, de 200 à 300 mgr. d'os desséché et dégraissé.

4° DOSAGE DU PHOSPHORE (METHODE DE BRIGGS)

Réactifs :

- 1) Réactif molybdique : dissoudre 25 gr. de molybdate d'ammonium dans 300 cm³ d'eau puis ajouter 75 cm³ d'acide sulfurique pur dilué dans 125 cm³ d'eau distillée.
- 2) Solution de sulfite de sodium anhydre à 20 %.
- 3) Solution d'hydroquinone à 1 % dans laquelle on a introduit deux gouttes d'acide sulfurique.
- 4) Solution étalon (1 cm³ = 1/100 mgr. de P) obtenue par solution de PO⁴H²K sec à 4,387 gr. par litre que l'on dilue à 1/100 au moment de l'emploi.

Technique. — Diluer la solution d'os à 1/10 en prélevant à la pipette 5 cm³ que l'on porte à 50 cm³ dans un ballon jaugé.

Prendre deux ballons jaugés de 50 cm³ ; introduire dans l'un 20 cm³ de la dilution d'os à 1/10 mesurés à la pipette, dans l'autre 20 cm³ de solution étalon, soit 0,20 mgr. de phosphore et 5 cm³ d'acide chlorhydrique décinormal.

Compléter en ajoutant dans chacun des deux ballons :

Réactif molybdique	5 cm ³
Solution de sulfite.....	2 cm ³
Solution d'hydroquinone	1 cm ³
Eau distillée	q. s. p. 50 cm ³

Agiter et comparer au colorimètre, une demi-heure après.

Calcul. — Si la solution primitive d'os renferme p mgr. pour 100 cm³, si H est la hauteur de l'étalon dans le colorimètre et h celle de la solution à doser, la teneur en phosphore est donnée par :

$$0,20 \times \frac{H}{h} \times \frac{5000}{p} = \text{Phosphore \% d'os dessée. et dégrais.}$$

5° DOSAGE DU CALCIUM (méthode de KRAMER et HOWLAND)

Réactifs :

- 1) Solution saturée d'oxalate d'ammonium.
- 2) Solution de pourpre de dibromocrésol obtenue en dissolvant 0,1 gr. de ce colorant dans 3,7 cm³ de soude N/10 et en portant à 250 cm³ avec de l'eau distillée, ce qui donne une solution à 0,04 %.
- 3) Acide sulfurique normal.
- 4) Ammoniaque à 1/10.
- 5) Solution de permanganate N/20 dont 1 cm³ correspond à 1 mgr. de calcium, contrôlée à chaque usage au moyen d'une solution décinormale d'oxalate de sodium.

Technique. — Verser dans un bécher 20 cm³ de la solution chlorhydrique d'os, mesurés à la pipette. Ajouter :

Indicateur coloré X gouttes
Solution d'oxalate 20 cm³

Ajouter de l'ammoniaque concentré jusqu'à coloration pourpre et revenir au jaune de l'acidité par de l'acide chlorhydrique 5 N. Porter quelques minutes au bain-marie bouillant. Après refroidissement, amener à pH 5 par de l'ammoniaque à 1/10 ajoutée goutte à goutte, jusqu'à coloration gris sale.

Abandonner la précipitation environ 12 heures. Décantier sur filtre Berzélius, laver le précipité avec de l'ammoniaque à 1/10 puis le dissoudre par de l'acide sulfurique N chaud.

Terminer en titrant par le permanganate N/20 : soit n cm³ ajoutés jusqu'à coloration rose persistante.

Calcul. — Si la solution chlorhydrique d'os renfermait p mgr. pour 100 cm³ on a :

$$\frac{500 \times n}{p} = \text{Ca \% d'os déséssché et dégraissé}$$

On peut ensuite doser Ca des cendres de la même façon et, de là, passer à Ca % d'os desséché par le calcul indiqué plus loin.

6° DOSAGE DU GAZ CARBONIQUE

Nous avons suivi intégralement la technique de KRAMER et HOWLAND, plus ou moins modifiée par SHEAR et KRAMER et utilisant des appareils de VAN SLYKE.

Réactifs. — HCl 5N.

Technique. — On amène dans la coupe de l'appareil environ 1 cm^3 de mercure que l'on couvre de 1 cm^3 d'eau. Puis on fait tomber, sur cette eau, environ 40 mgr. de poudre desséchée et dégraissée, pesée exactement à $1/10$ mgr, sur une feuille d'étain que l'on ne tare qu'après avoir versé la poudre dans l'appareil. Les parcelles de poudre qui adhèrent à la paroi de la coupe sont entraînées facilement, en élevant le niveau de mercure, puis en faisant passer dans la chambre de l'appareil. On ajoute 2 cm^3 d'eau, on lave la coupe et l'on fait passer dans la chambre. On renouvelle cette opération et on introduit dans la coupe $5,5\text{ cm}^3$ d'acide chlorhydrique 5 N dont on fait passer 5 cm^3 dans la chambre, le dernier demi- cm^3 évitant l'entrée d'air.

On abaisse alors l'ampoule à niveau jusqu'à ce que le niveau de mercure dans la chambre soit descendu au trait marqué 50 et l'on ferme le robinet inférieur : le vide étant ainsi fait, le gaz se dégage et on active le dégagement en pratiquant une quinzaine de retournements successifs. Quand on ne voit plus de bulles se dégager, on fait passer la solution aqueuse dans l'ampoule inférieure où on l'enferme et, par manœuvre du robinet inférieur, on la remplace par du mercure.

Pour la lecture, on a à l'intérieur de l'appareil, une colonne de mercure surmontée d'environ $1/2\text{ cm}^3$ de solution aqueuse : on amène les niveaux sur la même horizontale en corrigeant approximativement pour tenir compte de la colonne d'eau et on lit le volume de gaz dégagé.

Calcul. — Pour le calcul interviendront les corrections de pression, de température et de dissolution du gaz dans la solution aqueuse. Il suffira d'appliquer la formule donnée par KRAMER et HOWLAND.

$$\text{Vol. de CO}_2 \text{ à 760 mm./Hg} = \frac{\text{Vol. de gaz} - (\text{vol. solution} \times \alpha_{\text{air}})}{1 - \frac{\text{vol. solut.}}{\text{vol. chambre}} \times \alpha_{\text{CO}_2}} \times \frac{H}{760} \times \frac{273}{273 + t}$$

Dans cette formule :

$$\alpha_{\text{air}} = 0,0255 - 0,00033 \times t ;$$

$$\alpha_{\text{CO}_2} = 1,412 - 0,0225 \times t.$$

Ayant le volume, on passera au poids, en multipliant le volume par $\frac{44}{22,400} = 0,001965$, donc on a en milligrammes $x = V_{\text{CO}_2} \times 1,965$, et la teneur de l'os est donnée par :

$$\frac{x \times 100}{p} = \text{CO}_2 \% \text{ d'os desséché et dégraissé, } p \text{ étant la prise d'essai de poudre.}$$

7° EXPRESSION DES RESULTATS

Les dosages précédents nous ont donné les pourcentages du P, du Ca et du CO₂ dans l'os desséché et dégraissé. Connaissant d'autre part les cendres et le Ca des cendres, nous pourrions calculer les pourcentages du P, du Ca et du CO₂ dans l'os desséché.

Le Ca étant un élément fixe, on le prendra comme intermédiaire. On dosera d'abord le calcium dans les cer-

dres obtenues par l'incinération servant au dosage de ces cendres. De ces deux chiffres on déduira le Ca de l'os desséché. Un deuxième dosage de calcium étant pratiqué sur l'os desséché et dégraissé par l'alcool-éther, on peut alors, par de simples règles de trois, calculer les teneurs en phosphore et en gaz carbonique de l'os desséché (1). Voici un exemple de calcul.

On trouve à l'analyse les chiffres suivants :

Cendres : 64 % d'os desséché.

Calcium : 42 % des cendres.

28 % d'os desséché et dégraissé.

Phosphore = 12 % d'os desséché et dégraissé.

On en déduira :

$$\text{Calcium} = \frac{42 \times 64}{100} = 26.88 \% \text{ d'os desséché.}$$

$$\text{Phosphore} = \frac{12 \times 26.88}{28} = 11.52 \% \text{ d'os desséché.}$$

et de même pour le gaz carbonique.

8° INDICE D'IODE DES LIPIDES

Les acides gras non saturés (tels que l'acide oléique) et les glycérides correspondants, peuvent fixer autant de

(1) On peut s'étonner que nous ne calculions pas directement le P, le Ca et le CO² d'après les données obtenues sur l'os desséché dégraissé, données que nous rapporterions à l'os seulement desséché. En pratique il est difficile, si l'on dégraisse une poudre d'os par des reprises successives de solvant, d'être sûr qu'aucune perte ne s'est produite. Nous avons trouvé plus sûr de procéder comme nous l'indiquons.

molécules d'iode qu'ils ont de doubles liaisons. On appelle indice d'iode (ou indice de Hübl) le nombre de grammes du métalloïde absorbé par 100 grammes de matière grasse.

Réactifs :

- 1) Chloroforme.
- 2) Solution d'iode à 5 % dans l'alcool à 95°.
- 3) Solution de chlorure mercurique à 6 % dans l'alcool à 95°.
- 4) Solution d'iodure de potassium à 20 %.
- 5) Solution d'hyposulfite de sodium N/10.

Technique. — L'alcool-éther qui a servi à obtenir l'os desséché et dégraissé est évaporé dans une capsule, sous la cloche à vide. Le résidu est repris par un peu d'éther, versé dans un verre de montre taré, et évaporé sous la cloche à vide. On pèse exactement, soit $p = 0$ gr. 1 environ. On fait passer la matière pesée dans un flacon de 100 cm³, bouché à l'émeri, en la dissolvant dans 4 cm³ de chloroforme. On verse la même quantité de chloroforme dans un flacon témoin d'égale capacité puis on ajoute dans chaque flacon 4 cm³ exactement mesurés de solution d'iode (à 5 % dans l'alcool à 95°) et 4 cm³ de solution de chlorure mercurique (à 6 % dans l'alcool à 95°).

On bouche les flacons et, après avoir agité, on abandonne au repos pendant deux heures. Après ce temps, on introduit dans chaque flacon 5 cm³ de solution d'iodure de potassium à 20 % ; on agite pendant une à deux minutes, puis on titre l'excès d'iode par l'hyposulfite de sodium N/10. On verse d'abord celui-ci jusqu'à disparition pres-

que complète de la teinte jaune, puis on continue avec précaution, en présence d'empois d'amidon, en agitant bien après addition de chaque goutte, jusqu'à décoloration complète.

Calcul. — La différence entre les volumes v et v' d'hypo-sulfite employés dans le flacon témoin et dans celui qui contenait la matière grasse, exprimée en centimètres cubes et multipliée par 0 gr. 0127 représente la quantité d'iode fixé par l'essai. Si p est le poids de celui-ci en grammes, l'indice d'iode sera donné par la formule :

$$\frac{v - v'}{p} \times 0,0127 \times 100$$

9° MICRODOSAGE DU SOUFRE

(méthode de L. REVOL et M. FERRAND)

Réactifs :

- 1) Brome.
- 2) Soude au 1/10.
- 3) Acide nitrique officinal.
- 4) Eau oxygénée à 100 volumes.
- 5) Acide chlorhydrique à 1 p. 100.
- 6) Phénolphthaléine.
- 7) Ammoniaque pure.
- 8) Solution de chlorure d'ammonium à 5 p. 100.
- 9) Carbonate de magnésie.
- 10) Réactif nitromolybdique.
- 11) Solution de bleu de bromothymol.
- 12) Acétone.
- 13) Solution de benzidine (Fiske) : benzidine purifiée 4 gr., HCl N 50 c.c., eau distillée q. s. pour 250 c.c.
- 14) Soude N/50.

Technique. — La minéralisation, du type nitro-perhydrique, se passe dans un petit appareil distillatoire deux fois coudé dont la partie ascendante porte un tube latéral à robinet et est entourée d'un réfrigérant, tandis que la

partie descendante porte également un réfrigérant et se termine par une pomme plongeant dans un borboteur à brome. La minéralisation comprend deux phases : dans une première phase, en réfrigérant ascendant, le pouvoir minéralisant de l'acide nitrique et du perhydrol sont utilisés au maximum ; dans une seconde phase, distillatoire en réfrigérant descendant, les produits soufrés volatils sont fixés et oxydés dans le barboteur à brome. Par une facile absorption, le distillat est entièrement récupéré et l'ensemble est amené à l'état de sulfate dans des conditions permettant une précipitation benzidinique satisfaisante.

Pour doser le soufre total de l'os, on introduit dans le barboteur 10 gouttes de brome et 10 gouttes de soude au 1/10^e : on fixe le ballon renfermant environ 0 gr. 30 de poudre d'os desséchée et dégraissée pesée très exactement, et on y fait arriver par la tubulure latérale 5 cc. d'acide nitrique officinal. On chauffe au bain de sable en réfrigérant ascendant. Après deux heures d'ébullition, on fait arriver lentement 2 cc. d'eau oxygénée à 100 volumes. Après quelques minutes on coupe le réfrigérant ascendant et met en marche le réfrigérant descendant. La distillation est aisée. Lorsqu'il ne reste plus dans le ballon que quelques gouttes de liquide, on cesse de chauffer, et on crée artificiellement une légère dépression dans l'appareil, et le liquide du barboteur est absorbé et revient dans le ballon. On fait une nouvelle distillation suivie d'une nouvelle absorption. Une dernière distillation est poussée jusqu'à ce que le résidu contenu dans le ballon soit sec. On ouvre alors le robinet. Le ballon est détaché et, après

refroidissement, il est additionné de 0,5 c.c. d'eau oxygénée à 100 volumes. Un chauffage de 5 minutes au bain de sable chasse les dernières traces de vapeurs nitreuses.

La présence dans l'os d'une importante quantité de phosphore qui gênerait le dosage ultérieur des sulfates par la benzidine, nécessite l'élimination des phosphates avant d'entreprendre ce dosage (L. REVOL et R. PACCARD).

Le résidu sec du ballon de minéralisation est additionné de 20 c.c. d'eau distillée, on porte quelques minutes à l'ébullition pour transformer le pyrophosphate en orthophosphate seul précipitable à l'état de phosphate ammoniacomagnésien. La dissolution est obtenue par l'acide chlorhydrique à 1/100^e. Après refroidissement, on transvase le contenu du ballon dans un flacon jaugé de 25 c.c. On rince avec quelques centimètres cubes d'eau distillée les parois du ballon, et les eaux de lavage sont aussi introduites dans le flacon jaugé. On ajoute ensuite trois gouttes de phtaléine, de l'ammoniaque pure versée goutte à goutte jusqu'à franche alcalinité et 5 c.c. de chlorure d'ammonium à 5 p. 100. On complète à 25 c.c. avec de l'eau distillée et on agite.

On verse le contenu de ce flacon jaugé dans un petit bécher renfermant déjà 0,50 gr. de carbonate de magnésie. A l'aide d'un agitateur on triture lentement le mélange en faisant une cinquantaine de tours, on laisse reposer dix minutes et on recommence une nouvelle agitation. La même opération est renouvelée quatre fois encore. On centrifuge ensuite à grande vitesse et on décante avec précaution le liquide clair surnageant le précipité. Sur ce liquide décanté on vérifie l'absence de phosphates par le

reactif nitro-molybdique et on prélève pour le dosage du soufre 18 ou 20 c.c. exactement mesurés que l'on évapore à l'étuve.

Le résidu est utilisé pour le microdosage à la benzidine qui s'opère d'une façon très correcte selon la technique décrite par Chatron. On le reprend par 5 c.c. d'eau distillée. On ajuste au pH 2,8 environ en présence de bleu de bromothymol. à l'aide de HCl au 200° pour atteindre le virage du bleu au jaune. On additionne de 8 c.c. d'acétone pure et de 2 c.c. de solution de benzidine préparée selon Fiske. On laisse la précipitation s'effectuer et, après 10 minutes, on filtre à la trompe sur microfiltre en verre poreux d'Iéna 12 G4 L, en s'arrangeant pour ne jamais laisser le précipité se dessécher. On lave ensuite à 5 reprises avec chaque fois 2 c.c. d'acétone à 95 p. 100. Le filtre et son contenu sont ensuite placés, avec toutes les précautions utiles, dans un erlenmeyer renfermant 40 c.c. d'eau distillée bouillante et neutre. On titre à la microburette par NaOH N/50, en présence de phtaléine, l'acide sulfurique libéré.

On aura soin, naturellement, de n'utiliser au cours de ces dosages que des réactifs totalement exempts de soufre (vérifier notamment NO^3H , H^2O^2 , acétone, CO^3Mg).

Calcul. — Soit n le nombre de centimètres cubes de soude N/50 employée. Si v exprime le nombre de centimètres cubes de liquide exactement mesuré que l'on a évaporé pour faire le dosage après l'élimination des phos-

phates, et p la prise d'essai en mgr., le pourcentage de soufre sera :

$$S \% = \frac{0,32 \times n \times 25 \times 100}{v \times p} = \frac{800 \times n}{v \times p}$$

CONCLUSIONS

Nous apportons une étude sur les réactions du système osseux d'un certain nombre d'animaux, lorsque celui-ci est soumis à diverses influences.

1. — Nous montrons que la simple inclusion d'un transplant osseux dans les muscles de la région lombaire provoque des modifications dans la composition chimique de tout le squelette de l'animal qui a reçu le transplant. Cette expérience souligne la solidarité de tous les éléments du squelette d'un même animal ; elle exprime aussi l'extrême sensibilité du complexe chimique anorganique de l'os aux influences les plus discrètes.

2. — La balnéation au moyen d'une eau sulfureuse a supprime ce phénomène.

3. — Etudiant l'action d'une eau chlorurée sodique sur les cals de fracture, nous avons vu que la balnéation par ce type d'eau minérale augmente anatomiquement le volume des cals et accroît leur minéralisation.

4. — Recherchant l'influence de l'infection sur l'os, nous avons pu, au niveau de mastoïdes humaines atteintes d'ostéite, déceler une condensation de la substance osseuse à la périphérie du foyer purulent.

5. — Ayant administré de fortes doses d'acide ascorbique par la voie sous-cutanée, nous avons assisté à une dégénérescence graisseuse de l'os avec diminution des éléments minéraux. Cette action était surtout marquée au niveau de l'épiphyse.

6. — Ayant administré à des poulets une alimentation purement carnée, nous avons noté au niveau des os de ces oiseaux une diminution des lipides et une condensation de la portion minérale de l'os.

7. — Ayant comparé la teneur en soufre des épiphyses et des diaphyses d'os de cobaye, nous avons montré la prédominance de ce corps au niveau des épiphyses.

8. — Dans une revue synthétique des résultats obtenus, nous nous sommes efforcés d'établir une classification d'attente des différents types d'anomalie chimique observable sur l'os. Nous avons cru devoir établir les différentes catégories suivantes :

- a) Anomalies par modification des lipides de l'os.
- b) anomalies par troubles de la concentration ionique des liquides nutritifs de l'os.
- c) anomalies par apparition d'os jeune.
- d) troubles complexes réunissant plusieurs des mécanismes précédents.

Le Président de la Thèse,
PIERY.

Vu :
Le Doyen,
Jean LÉPINE.

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 7 mars 1939
Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,
A. LIRONDELLE.

BIBLIOGRAPHIE

- ALTENBURGER (E.). — Über die Beziehungen der Ascorbinsäure zum Glykogenhansalt der Leber. *Klin. Woch.*, 1936, t. 15, 1129-1131.
- ARLOING (F.), MOREL (A.) et JOSSERAND (A.). — Nouvelles recherches sur les complexes organico-métalliques, solubles, de l'acide dehydrascorbique. Augmentation de leurs effets sur les cancers par variation des métaux. *C. R. Acad. d. Sc.*, 1936, 202, 598-600.
- ARMAND (S.). — Contribution à l'étude du pouvoir antiscorbutique de quelques dérivés chimiques de la vitamine C. *Thèse Pharmacie*, Lyon, 1937.
- BERSIN (T.), KOSTER (H.) et JUSATZ (H. J.). — Biochemische Beziehungen zwischen Ascorbinsäure und Glutathion. *Z. Physiol. chem.*, 1935, 335, 12-18.
- BERTRAND (G.) et THOMAS (P.). — Guide pour les manipulations de chimie biologique. Un vol., Dunod et Pinat, édit., Paris, 1910.
- BEZSSONOFF (N.) et WOLOSZIN (M.). — L'influence des anions sur l'oxydation de la vitamine C. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, 125, 884.
- Sur l'existence d'une forme oxydée, intermédiaire entre la vitamine C et l'acide dehydrascorbique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, 20, 93-122.
- BOGERT (E. J.) et HASTINGO (A. B.). — The calcium salts of bone. *J. Biol. chem.*, 1932, 94, 473-481.
- BORSOOK (H.), DAVENPORT (H. W.), JEFFREYS (C. E. P.) et WARNER (R. C.). — Oxidation of ascorbic acid and its reduction in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.*, 1937,
- BOYLAND (E.). — Selective absorption of ascorbic acid by guinea-pig tumour tissue. *Biochem. J.*, 1936, t. 30, 1121-1224.

- BRIGGS (A. P.). — A modification of the Bell-Doisy phosphate method. *J. Biol. Chem.*, 1922, t. 53, 13-16.
- CARO (L. de) et GIANI (M.). — Oxydationsschutz der Ascorbinsäure durch tierisches gewebe. *Z. Physiol. chem.*, 1934, t. 228, 13-24.
- CHARLIN (A.). — Calcification et calcémie. *Thèse Méd.*, Lyon, 1934.
- CHEVALIER (A.) et CHORON (Y.). — Sur une méthode spectrophotométrique du dosage de l'acide ascorbique dans les tissus. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, t. 19, 511-526.
- CHEVAÛSU (D.). — Etude critique des dosages des gaz du sang et des constituants de l'os en vue de recherches sur diverses influences hormonales. *Thèse Pharmacie*, Lyon, 1936.
- DAOUD (K. M.) et EL AYYADI (M. A. S.). — The relation between vitamin C and adrenaline. *Biochem. J.*, 1938, t. 32, 1424-1434.
- DEMOLE (V.). — On physiological action of ascorbic acid and some related compounds. *Biochem. J.*, 1934, t. 28, 770-773.
- DEMOLE (V.) et IPPEN (F.). — Die Antityreotoxische Wirkung von Ascorbinsäure. *Z. Physiol. chem.*, 1935, t. 235, 226-232.
- ENSELME (J.) et CHARLIN (A.). — De l'interprétation de la calcémie dans les ostéopathies généralisées. *Lyon chir.*, 1935, t. 32, 257-268.
- De l'interprétation des variations de la calcémie en clinique. Essai de classification pathogénique des ostéopathies. *Lyon Méd.*, 1935, t. 41, 1-5.
- FERRAND (M.). — Etude critique de quelques méthodes chimiques de dosage de l'acide ascorbique. *Thèse Pharmacie*, Lyon, 1936.
- FISCHER (M.). — Die Oxidation der Ascorbinsäure durch peroxydatisches system. Die Wirkung der Hämoglobinderivate auf die Ascorbinsäure. *Biochem. Z.*, 1937, t. 292, 271-275.

- FRUTON. — Oxidation-reduction potentials of ascorbic acid. *J. Biol. chem.*, 1934, t. 105, 79-85.
- GAUTIER (A.). — Leçons de Chimie Biologique normale et pathologique. Un vol., 826 p., Masson et Cie, édit., Paris, 1897.
- GHOSH (J. C.) et RAKSHIT, — Die Autoxydation von Ascorbinsäure und ihre Hemmung durch Schwefelverbindungen, *Biochem. Z.*, 1937, t. 289, 15-26.
- GIROUD (A.) et LEBLOND (C. P.), — Recherches sur l'acide ascorbique, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, t. 18, 173-175.
— Sur la fixation de l'acide ascorbique par les tissus normaux ou scorbutiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. 115, 705,
- GIROUD (A.), LEBLOND (C. P.), RATSIMAMANGA (R.) et GERO (E.). — Le taux normal en acide ascorbique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, t. 20, 1079-1087.
- GIROUD (A.), RABINOWICZ (M.) et HARTMANN (E.). — Le taux réalisé chez l'homme. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, t. 20, 1097-1101.
- GIROUD (A.) et RATSIMAMANGA (R.). — Distribution de la vitamine C chez les Invertébrés. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, t. 18, 375-382.
- GIROUD (A.), RATSIMAMANGA (R.), LEBLOND (C. P.), RABINOWICZ (M.) et DRIEUX (H.). — Répartition générale de l'acide ascorbique dans l'organisme et déductions. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, t. 19, 1105-1125.
- GIROUD (A.), SANTOS-RUIZ (A.), LEBLOND (C. P.) et RATSIMAMANGA. — Le taux de l'acide ascorbique chez les animaux carencés. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, t. 18, 750-756.
- GUILLAUMIN (Ch. O.). — Calcium et calcémie chez l'homme. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, t. 14, 85-196.
- HINSBERG (K.). — Die Stabilisierung der Ascorbinsäure durch Metaphosphorsäure. *Biochem. Z.*, 1937, t. 290, 125-128.
- HOWLAND (J.), MARIOTT (W.) et KRAMER (B.). — Studies upon the inorganic composition of bones. *J. Biol. Chem.*, 1926, t. 68, 721-728.

- HUGOUNENQ (L.). — Précis de chimie physiologique et pathologique, 4^e éd., coll. Testut, Doin, Paris.
- KRAMER (B.) et HOWLAND (J.). — The quantitative estimation of calcium, magnesium, phosphate and carbonate in bone. *J. Biol. chem.*, 1926, t. 68, 711-720.
- LEMBERG (R.), CORTIS-JONES (B.) et NORRIE (M.). — Coupled oxidation of Ascorbic Acid and Hæmochromogens. *Biochem. J.*, 1938, t. 32, 149-170.
- LERICHE (R.). — Physiologie pathologique de l'ostéomyélite aiguë des adolescents. *Le Progrès Médical*, 1939, t. 5, 151-153.
- LERICHE (R.) et POLICARD (A.). — Physiologie normale et pathologique de l'os. Un vol. 229 p., Masson et Cie, édit., Paris, 1926.
- Physiologie pathologique chirurgicale. Un vol. 212 p., Masson et Cie, édit., Paris, 1930.
- LOUBAT, CRÉTIN (A.) et MAGENDIE. — Sur un cas de diaphysectomie précoce primitive pour ostéomyélite aiguë du tibia. Examen histochimique de l'os réséqué. *Journ. de Méd. de Bordeaux*, 1935, t. 4, 93-98.
- MANCAU (P.), POLICARD (A.) et FERRAND (M.). — Remarques sur le dosage chimique de l'acide ascorbique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, t. 18, 1369-1386 et 1623-1634.
- MAWSON (C. A.). — The influence of animal tissues on the oxidation of ascorbic acid. *Biochem. J.*, 1935, t. 29, 569-579.
- MELKA (J. et L.). — Über den Ascorbinsäuregehalt in den menschlichen tonsillen. *Klin. Woch.*, 1937, t. 16, 1217-1219.
- MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.), BERNHEIM (M.) et Mlle WEILL. — Recherches sur les antifixateurs du calcium. *Presse méd.*, 1931, t. 42, 769.
- MOURIQUAND (G.), MICHEL (P.) et SANYAS (R.). — Adjuvants et antagonistes de la nutrition osseuse. *Presse méd.*, 1923, t. 31, 697.

- PAAL (H.) et BRECHT (K.). — Ascorbinsäure und Schilddrüsenfunktion. *Klin. Woch.*, 1937, t. 16, 261-264.
- PELLET. — Mise au point des notions modernes d'ostéogénèse pour servir à l'étude de l'action recalciifiante des eaux de Bourbonne-les-Bains. *L'Est thermal et climatique*, 1938, t. 4, 191-202.
- PIÉRY (M.), ENSELME (J.) et Mlle NURY (D.). — Recherches sur l'action biologique de deux eaux sulfatées chlorurées (source Hybord de Brides et source froide de Salins-Moûtiers) et d'une eau chlorurée sodique (source chaude de Salins-Moûtiers) minéralisées dans des terrains gypseux de même origine. *Ann. Inst. Hydrol. climatol.*, 1937, t. 11, 283-309.
- PIÉRY (M.), GRANDPIERRE (R.) et ROUCHETTE (J.). — Action expérimentale de l'eau de Bourbonne sur la croissance et la calcification osseuse. *Annales Sté Hydr.*, 1935, t. 9, 464-475.
- POLICARD (A.) et REVOL (L.). — Teneur en soufre des divers constituants histologiques des articulations chez les mammifères. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 127, 626-628.
- POLICARD (A.) et ROCHE (J.). — La formation de la substance osseuse. Essai de coordination des données histologiques et biochimiques. *Ann. Physiol. et Physicochim. biol.*, 1937, t. 13, 645-703.
- POLONOWSKI (M.) et LESPAGNOL (A.). — Eléments de chimie organique biologique. Un vol. 593 p., Masson et Cie, édit., Paris, 1934.
- RANDOIN (E.) et RAFFY (A.). — Essais de séro-interférométrie endocrinienne de cobayes normaux et de cobayes scorbutiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, t. 19, 119-124.
- REVOL (L.). — Microdosage du soufre dans le sérum sanguin normal. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 126, 22-24.
- REVOL (L.) et FERRAND (M.). — Sur une méthode de minéralisation applicable au microdosage benzidinique du soufre organique en biologie. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1935, t. 17, 1451.

- REVOL (L.) et PACCARD (R.). — Sur le soufre total du lait. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 126, 25-26.
- ROCHE (A.) et GARCIA (I.). — Recherches sur l'ossification. I. Ossification normale et constitution de réserves minérales au cours du développement. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, t. 18, 1014-1026.
- ROCHE (A.), ROCHE (J.) et MARCELET (Y.). — Le système osseux unité physiologique. Etapes de la croissance et degré de calcification des os longs ou plats et des dents. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 128, 910-912.
- Recherches sur l'ossification. IV. Ossification des os plats, étapes du développement du squelette et biochimie générale du système osseux. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, t. 20, 705-717.
- ROCHE (J.) et FILIPPI (A.). — Recherches sur l'ossification. V. Augmentation de l'activité phosphatasique du squelette après fracture d'un os et biochimie générale du système osseux. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, t. 20, 1148-1165.
- ROCHE (J.), FILIPPI (A.), LAUGIER (H.) et RANSON (Th.). — Sur les réactions générales du squelette consécutives à la fractures d'un os. *C. R.*, 1938, t. 207, 254.
- ROHMER (P.), BEZSSONOFF (N.), SCHNEEGANS-HOCH (S.) et SACREZ (R.). — La vitamine C et l'hématopoïèse. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 127, 1279.
- ROUCHETTE (J.). — Contribution à l'étude de l'action thérapeutique des eaux chlorurées sodiques, la cure de Bourbonne-les-Bains dans les suites de fractures et le rachitisme expérimental. *Thèse méd.*, Lyon, 1934.
- SHEAR (M. J.) et KRAMER (B.). — Composition of bone. *J. Biol. chem.*, 1928, t. 79, 105-160.
- SZENT-GYÖRGYI (A.). — Identification of vitamin C. *Nature*, 1933, t. 131, 225.
- L'acide ascorbique (vitamine C). *Bull. Soc. chim. biol.*, 1933, t. 25, 694.

- VIENNOIS (P.). — Contribution à l'étude biochimique de la vitamine C. *Thèse Pharmacie*, Lyon, 1937.
- VILLARD (H.), VIALLEFONT (H.) et DIACONO. — Essais de réalisation d'hypervitaminose C chez le cobaye et le lapin. *Arch. Soc. d. sc. méd. et biol. de Montpellier*, 1935, t. 16, 428-430.
- WOODHOUSE (D. L.). — The action of ascorbic acid on tumour metabolism. A preliminary note on the effects observed following injections into mice with tar-induced neoplasms. *Biochem. J.*, 1934, t. 28, 1974-1976.
- WURMSER (R.) et de LOUREIRO (J. A.). — Le potentiel d'oxydo-réduction de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 113, 543-544.
- Sur la durée de vie de la forme oxydée réversible de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. 116, 583.
- WURMSER (R.) et MAYER (N.). — Sur la réversibilité de l'oxydation de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, t. 121, 3-5.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS	7
INTRODUCTION	9
CHAPITRE PREMIER. — <i>Les variations de la constitution chimique de l'os chez l'animal adulte. Expériences personnelles au sujet de l'influence des transplants sur la composition chimique du squelette.</i>	13
Interprétation de la variation du pourcentage des éléments qui constituent l'os.	14
Ampleur des variations observées.	15
La sensibilité du système osseux aux actions générales	16
Expériences personnelles s. les transplants osseux	18
CHAP. II. — <i>Action expérimentale de diverses eaux minérales sur l'ossification (Salins-Moûtiers et Aix-les-Bains)</i>	21
Action des eaux chlorurées sodiques.	22
Action des eaux sulfureuses.	24
CHAP. III. — <i>Action de l'infection sur la composition chimique de l'os. Etude de mastoïdites humaines.</i>	27
CHAP. IV. — <i>L'acide ascorbique agent oxydo-réducteur</i>	31
Evolution de l'acide ascorbique en solution.	31
Evolution de l'acide ascorbique au contact du sang	36
L'acide ascorbique au niveau des tissus.	38
L'acide ascorbique et les tumeurs.	45
L'acide ascorbique et les hormones.	47
L'acide ascorbique et les diastases.	50
Modes d'expérimentation	50
CHAP. V. — <i>Recherches personnelles au sujet de l'action de doses importantes d'acide ascorbique sur la constitution de l'os.</i>	53
CHAP. VI. — <i>Influence de l'alimentation sur la constitution osseuse. Expériences personnelles</i>	59

Expériences personnelles	61
CHAP. VII. — <i>Le soufre de l'os. Dosages dans les épiphyses et les diaphyses chez le cobaye</i>	65
CHAP. VIII. — <i>Aperçu général sur les troubles de l'ossification. Intérêt du rapport P/CO²</i>	67
Les troubles portant sur la substance grasseuse de l'os	68
Anomalies dues à un trouble de la concentration ionique	70
Troubles par enrichissement de l'élément minéral de l'os	71
Les anomalies complexes de l'os	73
APPENDICE. — <i>Techniques d'analyse de l'os</i>	77
Préparation de la poudre desséchée	77
Dosage des cendres	77
Préparation de la solution pour l'analyse minérale	78
Dosage du phosphore	78
Dosage du calcium	79
Dosage du gaz carbonique	80
Expression des résultats	82
Indice d'iode des lipides	83
Microdosage du soufre	85
CONCLUSIONS	91
BIBLIOGRAPHIE	93

